



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

MICROBIOTA CUTÂNEA DE COELHO (*Oryctolagus cuniculus*)
E COBAIO (*Cavia porcellus*) DE COMPANHIA

RAQUEL MARIA MORGADINHO DE ABREU E SILVA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Virgílio da Silva Almeida

Doutora Sandra de Oliveira Tavares
de Sousa Jesus

Doutora Maria Manuela Castilho
Monteiro de Oliveira

ORIENTADOR

Doutora Maria Manuela Castilho
Monteiro de Oliveira

CO-ORIENTADOR

Mestre Ana Teresa Severino
Caldeira Reisinho

2019

LISBOA





UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

MICROBIOTA CUTÂNEA DE COELHO (*Oryctolagus cuniculus*)
E COBAIO (*Cavia porcellus*) DE COMPANHIA

RAQUEL MARIA MORGADINHO DE ABREU E SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Virgílio da Silva Almeida

Doutora Sandra de Oliveira Tavares
de Sousa Jesus

Doutora Maria Manuela Castilho
Monteiro de Oliveira

ORIENTADOR

Doutora Maria Manuela Castilho
Monteiro de Oliveira

CO-ORIENTADOR

Mestre Ana Teresa Severino
Caldeira Reisinho

2019

LISBOA

– À minha família –

“you do not just wake up and become the butterfly
- *growth is a process*”

Rupi Kaur

Agradecimentos

Ao meu Pai e à minha Mãe, que desde sempre me transmitiram que com trabalho, dedicação e perseverança conseguimos atingir todos os nossos objetivos.

Às minhas irmãs Filipa e Paula, por acreditarem nas minhas capacidades e por me inspirarem a ultrapassar as dificuldades sem desistir.

À minha avó Mimi, por todo o carinho e alegria que sempre me transmite.

A toda a minha família, por ser um pilar essencial na minha vida – sem ela nada faria sentido!

À Prof.^a Manuela Oliveira, por ter aceitado orientar o meu estágio e dissertação, pela oportunidade, disponibilidade, conhecimento, tranquilidade e, acima de tudo, boa disposição que sempre me transmitiu ao longo do estágio.

À Dr.^a Ana Reisinho, por ter aceitado co-orientar o meu estágio, pelos ensinamentos e comentários sensatos, por ser uma excelente médica veterinária e por perseguir sempre o conhecimento, um aspeto para mim fundamental num médico veterinário.

Ao CIISA, por ter proporcionado todas as condições que tornaram possível o meu estágio laboratorial.

A todos os médicos e enfermeiros veterinários do Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária, por tantos ensinamentos, pela paciência, pelos momentos de alegria e por me terem transmitido tantas competências, nomeadamente o estabelecimento de relações profissionais e o trabalho em equipa.

Ao Dr. Ferran, Dr. Jorgi, Dr.^a Montse e Dr.^a Carina pela oportunidade que me concederam em estagiar em Barcelona, pela permissão da recolha de casuística na sua clínica e por todos os ensinamentos preciosos que me transmitiram.

Ao Prof. Tiago e Soraia, pela amabilidade e disponibilidade para me ajudar com a análise estatística.

A todos os colegas do departamento de Microbiologia, especialmente Eva e Miguel, pela sua paciência, ajuda e carinho – sem eles a vida de laboratório teria sido muito mais solitária.

À D. Anabela, pelo apoio incondicional no laboratório de Micologia.

Aos meus amigos de faculdade, especialmente Mariana Roque, Beatriz Galrinho, Mariana Esteves, Filipa Vitória, António Camarão, Pedro Santos, Diogo Vieira, Diogo Mendes e Pedro Ruivo – sem eles este curso não teria sido o mesmo!

Por último, mas não menos importante, ao Tiago, a pessoa que acompanhou mais proximamente o meu percurso, que tanto me apoiou e que me mostrou que a palavra “desistir” não existe!

Resumo

O coelho e o cobaio são cada vez mais frequentes como animais de companhia. Entre as infecções zoonóticas que podem existir nestas espécies destaca-se a dermatofitose, e o coelho e cobaio já foram referenciados como possíveis portadores assintomáticos de dermatófitos.

Os objetivos deste estudo incluíram a caracterização da micobiota cutânea destas espécies; determinação da frequência de fungos dermatófitos em coelhos e cobaios com e sem lesões cutâneas, nas áreas de Barcelona e Lisboa; avaliação da relação entre os resultados das culturas micológicas e diversas variáveis relacionadas com a caracterização e manejo dos animais; comparação entre dois meios de cultura utilizados para diagnóstico micológico, o meio *Sabouraud Chloramphenicol Agar* (SCA) e o meio *Dermatophyte Test Medium* (DTM); por último, comparação entre dois métodos de colheita de amostra para análise micológica – arrancamento de pelos e escovagem do animal (método de Mackenzie).

Foram recolhidas 118 amostras de pelo e pele de coelhos e cobaios através de arrancamento de pelos e recolha de escamas em lesões (quando existentes) ou ao longo do corpo do animal e 51 amostras através de escovagem. As amostras foram semeadas nos meios referidos, incubadas e observadas diariamente. Por fim, as espécies fúngicas foram identificadas por observação da morfologia macro e microscópica das colónias. Foi realizado um questionário aos tutores em Lisboa para recolher informação relativa ao manejo dos animais.

Não foram identificados fungos dermatófitos a partir das amostras; no entanto, foram isolados maioritariamente fungos saprófitas, semelhantes aos encontrados na pele e pelo de outros animais, nomeadamente *Aspergillus*, *Penicillium* e *Scopulariopsis*, muito frequentes no ambiente, tendo sido já reportados como responsáveis por infeções micóticas em humanos e animais. A análise estatística permitiu evidenciar que as variáveis “espécie”, “idade” e “medicação” são significativas em relação à variação da variável “positividade na cultura micológica”, enquanto a “idade”, “acesso ao exterior” e “medicação” são significativas em relação à variação da variável “número de espécies fúngicas isoladas” a partir das amostras. Concluiu-se que existe maior probabilidade de obtenção de uma cultura positiva e de um maior número de espécies fúngicas por amostra se estas forem semeadas em meio SCA do que em DTM; no entanto, apesar de o DTM ser um meio desenvolvido com o objetivo de permitir um diagnóstico fácil de dermatófitos pela ocorrência de alteração da cor do meio, neste estudo houve outras espécies fúngicas que também promoveram esta alteração. Por fim, concluiu-se que com a aplicação do método de Mackenzie há maior probabilidade de se isolar mais espécies fúngicas do que através do método de arrancamento, mas não foi possível concluir se havia animais portadores de dermatófitos apenas diagnosticados após sementeira das amostras obtidas pelo método de Mackenzie pois não se obtiveram resultados positivos. Assim, propõe-se a realização de um estudo comparativo entre estes métodos de colheita baseado num maior número de amostras, incluindo resultados positivos a dermatófitos.

Palavras-chave: coelho, cobaio, fungos, dermatófitos, saprófitas, micose, zoonose.

Abstract

Nowadays, rabbits and guinea pigs are frequently adopted as companion animals. Among the zoonotic infections that can affect these species dermatophytosis is the most frequent, and rabbits and guinea pigs have already been referred as possible asymptomatic carriers of dermatophytes.

The goals of this study included the characterization of the cutaneous mycobiota of these species; determination of the frequency of dermatophytes in rabbits and guinea pigs from Barcelona and Lisbon, including animals with and without cutaneous lesions; evaluation of the relationship between the results from mycological cultures and several variables related to the characterization and management of these animals; comparison between two culture media used for mycological diagnosis, Sabouraud Chloramphenicol Agar (SCA) and Dermatophyte Test Medium (DTM); finally, comparison between two methods for sample collection for mycological analysis – hair pulling and animal brushing (Mackenzie's technique).

Samples included 118 hair and skin samples, collected from rabbits and guinea pigs by pulling hairs surrounding lesions and collecting scales (if present) or along the body of the animal and also 51 hair samples collected using the Mackenzie's technique. Samples were inoculated in the referred culture media, incubated and observed daily. Finally, fungal species were identified by observing the macro and microscopic morphology of the colonies. A questionnaire was provided to the tutors of animals in Lisbon, to collect information on animal husbandry.

No dermatophyte fungi were identified from any of the samples under study; however, saprophytic fungi, similar to those found on the skin and hair of other animals, such as *Aspergillus*, *Penicillium* and *Scopulariopsis*, were mainly isolated; these fungi have already been reported as responsible for mycotic infections in humans and animals. The statistical analysis showed that the variables "species", "age" and "medication" are significant in the explanation of the variation of the "positivity in the mycological culture", while "age", "outdoor access" and "medication" are significant in the explanation of the variation of the "number of isolated fungal species" from the samples. It was also concluded that there was a higher probability of obtaining a positive culture and a larger number of fungal species per sample if they were inoculated in SCA medium than in DTM; however, although DTM is a medium developed with the goal of allowing an early diagnosis of dermatophytes by observing the changes in the color of the medium, in this study there were other fungal species that also promoted this change. Finally, it was possible to conclude that Mackenzie's technique allows the isolation of a higher number of fungal species than the pulling method; however, it was not possible to conclude if this technique is associated with a more frequent dermatophytosis diagnostic since no positive results were obtained. Thus, a comparative study between these collection methods based on a larger number of samples is proposed, in order to include positive results for dermatophytes.

Keywords: rabbit, guinea pig, fungi, dermatophytes, saprophytes, mycosis, zoonosis.

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract	v
Índice	vii
Índice de Gráficos	x
Índice de Figuras	x
Índice de Tabelas	xi
Lista de Siglas	xiii
Parte I – Relatório de estágio	1
1. Actividades desenvolvidas no período de estágio	1
1.1. Zoológico Veterinário	1
1.2. Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária	1
1.3. Laboratório de Micologia da FMV-ULisboa	6
Parte II – Revisão bibliográfica	7
2. Coelho e cobaia como animais de companhia	7
3. Dermatologia do coelho e do cobaia	8
3.1. Particularidades fisiológicas cutâneas no coelho e cobaia	8
3.1.1. Espessura da pele	8
3.1.2. Pelagem	8
3.1.3. Almofadinhas plantares	10
3.1.4. Garras	11
3.1.5. Glândulas sebáceas	11
3.2. Afeções dermatológicas do coelho e do cobaia	12
3.2.1. Abordagem ao diagnóstico dermatológico	12
3.3. Impacto do manejo na saúde dermatológica do coelho e cobaia	13
4. Infecções micóticas no coelho e no cobaia	15
4.1. Introdução à micologia veterinária	15
4.2. Características gerais dos fungos	15
4.2.1. Morfologia	15
4.2.1.1. Fungos filamentosos	16
4.2.1.2. Fungos leveduriformes	17
4.2.2. Nutrição e metabolismo	18
4.2.3. Taxonomia	19
4.2.4. Reprodução	19
4.2.4.1. Reprodução assexuada	20
4.2.4.1.1. Fissão	20
4.2.4.1.2. Gemulação	20
4.2.4.1.3. Fragmentação das hifas	21
4.2.4.1.4. Formação de esporos	21
4.2.4.2. Reprodução sexuada	23
4.3. Infecções micóticas	23
4.3.1. Classificação	24
4.3.2. Diagnóstico	25
4.3.2.1. Recolha de amostras	25
4.3.2.2. Exame microscópico direto	25
4.3.2.3. Cultura fúngica	26
4.4. Infecções cutâneas	27
4.4.1. Dermatofitoses	27
4.4.1.1. Dermatofitoses no coelho	28
4.4.1.2. Dermatofitoses no cobaia	29
4.4.1.3. Diagnóstico das dermatofitoses	29
4.4.1.3.1. Diagnósticos diferenciais	29
4.4.1.3.2. Exame com lâmpada de Wood	32
4.4.1.3.3. Exames laboratoriais	33
4.4.1.3.4. Histopatologia	35

4.4.1.4. Tratamento e prognóstico	36
4.4.1.4.1. Tratamento do animal.....	36
4.4.1.4.2. Tratamento ambiental.....	37
4.4.1.5. Prevenção.....	38
4.4.2. Dermatomicoses	39
4.4.2.1. Aspergilose.....	39
4.4.2.2. Malasseziose.....	39
4.4.2.3 Candidíase	40
4.4.2.4. Criptococose	40
4.4.2.5. Outras espécies fúngicas	40
Parte III – Estudo.....	41
5. Objetivos do estudo.....	41
6. Materiais e métodos	42
6.1. Critérios de inclusão.....	42
6.2. Colheita de amostras	42
6.3. Questionário	42
6.4. Processamento de amostras.....	43
6.4.1. Cultura.....	43
6.4.1.1. Meios de cultura.....	43
6.4.1.2. Inoculação dos meios de cultura	43
6.5. Identificação fúngica	44
6.5.1. Condições de crescimento	44
6.5.2. Morfologia macroscópica.....	44
6.5.3. Morfologia microscópica	45
6.5.3.1. Preparação microscópica.....	45
6.6. Análise estatística	45
7. Resultados e discussão.....	47
7.1. Caracterização da amostra	47
7.2. Espécies isoladas	49
7.2.1. Fungos filamentosos	50
7.2.1.1. <i>Alternaria</i> sp.....	50
7.2.1.2. <i>Aspergillus</i> spp.....	51
7.2.1.3. <i>Chaetomium</i> sp.....	52
7.2.1.4. <i>Cladosporium</i> sp.	52
7.2.1.5. <i>Mucor</i> spp.	53
7.2.1.6. <i>Penicillium</i> spp.	54
7.2.1.7. <i>Phoma</i> sp.....	54
7.2.1.8. <i>Rhizopus</i> sp.	54
7.2.1.9. <i>Scopulariopsis</i> spp.	55
7.2.1.10. Fungos filamentosos não identificados.....	56
7.2.2. Fungos leveduriformes	57
7.2.2.1. <i>Candida</i> sp.....	57
7.2.2.2. <i>Rhodotorula</i> sp.....	58
7.2.3. Avaliação integrativa	58
7.3. Análise da significância das variáveis independentes	61
7.3.1. Local.....	61
7.3.2. Espécie	62
7.3.3. Género	63
7.3.4. Idade	64
7.3.5. Proveniência.....	65
7.3.6. Doença dentária adquirida.....	66
7.3.7. Contacto com outros animais	67
7.3.8. Higiene	69
7.3.9. Acesso ao exterior.....	70
7.3.10. Substrato da jaula.....	71
7.3.11. Alimento	73
7.3.12. Medicação	74

7.4. Comparação entre meios de cultura	76
7.5. Comparação entre métodos de colheita.....	80
8. Conclusão	84
Bibliografia.....	86
Anexos.....	98
1. Casuística	98
1.1. Clínica médica	98
1.2. Medicina preventiva	100
1.3. Clínica cirúrgica	100
1.4. Imagiologia	101
2. Taxonomia	103
3. Questionário.....	104
4. Espécies fúngicas reportadas na pele e pelo de diversas espécies animais	106
5. Descrição das espécies fúngicas isoladas.....	107
6. Resultados da análise de regressão.....	117
7. Poster Congresso Hospital Veterinário Montenegro 2018	119

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Distribuição das horas de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por serviço	2
Gráfico 2 – Proporção de espécies observadas em consulta e Frequência Relativa (FR) das espécies de animais exóticos observadas no HEV da FMV-ULisboa.....	3
Gráfico 3 – Caracterização da amostra relativamente à espécie e ao local de recolha das amostras biológicas	47
Gráfico 4 – Distribuição de idades dos animais amostrados	48
Gráfico 5 – Frequência Relativa (FR) do motivo primário de consulta dos animais amostrados	48
Gráfico 6 – Achados dermatológicos em consulta de medicina preventiva ou consulta por problema noutra sistema, expressos em valor absoluto e em percentagem (n=18)	49
Gráfico 7 – Frequência Relativa (FR) (%) do número de espécies fúngicas isoladas nas culturas positivas de acordo com o meio de cultura	76
Gráfico 8 – Frequência Relativa (FR) do número de espécies fúngicas isoladas nas culturas positivas de acordo com o método de colheita.....	81

Índice de Figuras

Figura 1 – Esquema da pele do coelho e cobaio, semelhante à dos outros mamíferos (adaptado de National Cancer Institute, 2001): a – Epiderme, b – Derme, c – Hipoderme; 1 – Glândula sebácea, 2 – Haste do pelo, 3 – Folículo do pelo, 4 – Vasos sanguíneos.....	8
Figura 2 – Zonas de alopecia ou hipotricose fisiológicas no coelho: a) Área inguinal – nesta zona localizam-se glândulas sebáceas; b) Zona posterior do pescoço (Originais)	10
Figura 3 – Zonas de alopecia ou hipotricose fisiológicas no cobaio: a) Entre o nariz e os lábios e ao redor dos lábios; b) Parte externa dos pavilhões auriculares (1) e atrás das orelhas (2) (Originais)	10
Figura 4 – Extremidades do coelho e cobaio: a) O coelho possui pelo a cobrir os dígitos e metatarsos; b) O cobaio possui almofadinhas plantares suaves desprovidas de pelo (Fotografia cedida por Mafalda Paixão)	11
Figura 5 – Glândula sebácea acima da cauda no cobaio (Fotografia cedida por Mafalda Paixão)	11
Figura 6 – Preparação microscópica de fungos com diferentes pigmentos: a) Fungo dematiáceo, com pigmentos melânicos; b) Fungo hialino, sem pigmentos melânicos, corado com azul de Lactofenol (Originais)	16
Figura 7 – Preparações microscópicas de fungos filamentosos onde se podem observar alguns elementos fúngicos: a) Micélio (porção vegetativa onde se visualizam apenas hifas); b) Rizóide (estrutura típica de algumas espécies fúngicas da ordem Mucorales) (Originais)	16
Figura 8 – Diferentes tipos de hifas: a) Hifa septada; b) Hifa asseptada (Originais)	17
Figura 9 – Preparações microscópicas de fungos leveduriformes: a) Leveduras em	18
Figura 10 – Esquema representativo da multiplicação fúngica por fissão (Original)	20
Figura 11 – Multiplicação por gemulação: a) Esquema representativo do processo de gemulação; b) Pseudo-hifas (Originais)	21
Figura 12 – Esquema representativo da fragmentação das hifas (Original).....	21
Figura 13 – Esporângio raturado a libertar esporos (Original)	22
Figura 14 – Esquema representativo da formação de artrosporos: 1 – Hifas; 2 – Artrosporo (Original)	22
Figura 15 – Clamidosporo (Original).....	23
Figura 16 – Lesões de dermatofitose em coelhos: a) Lesão no pavilhão auricular (Hoppmann & Barron, 2007a); b) Lesão no chanfro (Dey, Rahman, Rimu, Dutta & Sayeed, 2016).....	29
Figura 17 – Lesão de dermatofitose no cobaio (Bio Agens Research and Development, n.d.)	29
Figura 18 – Alteração da cor do meio DTM após incubação de uma amostra de pelo de coelho: a) Superfície e reverso da cultura após 8 dias de incubação; b) Superfície e reverso da cultura após 13 dias de incubação (Originais)	78

Figura 19 – Morfologia macroscópica de <i>Alternaria</i> sp. em SCA após 16 dias de incubação: a) Superfície da cultura (seta); b) Reverso da cultura (seta) (Originais)	107
Figura 20 – Morfologia microscópica de <i>Alternaria</i> sp.: a) 1 – Hifas septadas; 2 – Conidióforo ramificado; b) Poroconídio (Originais)	107
Figura 21 – Morfologia macroscópica de <i>Aspergillus</i> spp. (superfície e reverso: a) Cultura em SCA após 16 dias de incubação; b) Cultura em DTM após 13 dias de incubação (Originais)	108
Figura 22 – Morfologia microscópica de <i>Aspergillus</i> spp.: a) Estrutura reprodutora – vesícula com fiálides e conídios; b) Conidióforo longo (seta); c) Conídios rugosos numa espécie de <i>Aspergillus</i> ; d) Estruturas visualizadas aquando da reprodução sexuada: d1 – Células de Hülle em <i>Emericella nidulans</i> , a forma teleomorfa de <i>Aspergillus nidulans</i> ; d2 – Cleistotécias (Originais)	108
Figura 23 – Morfologia macroscópica de <i>Chaetomium</i> sp. em SCA após 16 dias de incubação: a) Superfície da cultura (seta); b) Reverso da cultura (seta) (Originais)	109
Figura 24 – Morfologia microscópica de <i>Chaetomium</i> sp.: 1 – Peritécio; 2 – Pelos a cobrir o peritécio (Originais)	109
Figura 25 – Morfologia macroscópica de <i>Cladosporium</i> sp. em SCA após 16 dias de incubação: a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)	110
Figura 26 – Morfologia microscópica de <i>Cladosporium</i> sp.: a) Hifa dematiácea septada (1) com conidióforo (2) dematiácea; b) Cadeias de conídios dematiáceos (Originais)	110
Figura 27 – Morfologia macroscópica de <i>Mucor</i> sp. em SCA após 8 dias de incubação: a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)	111
Figura 28 – Morfologia microscópica de <i>Mucor</i> sp.: 1 – Hifa asseptada; 2 – Esporângio; 3 – Columela (Originais)	111
Figura 29 – Morfologia macroscópica de <i>Penicillium</i> spp. em SCA (superfície e reverso): a) Cultura após 20 dias de incubação; b) Cultura após 21 dias de incubação (Originais) ..	112
Figura 30 – Morfologia microscópica de <i>Penicillium</i> sp.: 1 – Conidióforo; 2 – Fiálide; 3 – Cadeia de conídios (Originais)	112
Figura 31 – Morfologia macroscópica de <i>Phoma</i> sp. em SCA após 16 dias de incubação: a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)	113
Figura 32 – Morfologia microscópica de <i>Phoma</i> sp.: a) Picnídio; b) Clamidosporos (Originais)	113
Figura 33 – Morfologia macroscópica de <i>Rhizopus</i> sp. em SCA após 5 dias de incubação: a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)	114
Figura 34 – Morfologia microscópica de <i>Rhizopus</i> sp.: 1 – Esporângio; 2 – Columela; 3 – Esporangiosporos (Originais)	114
Figura 35 – Morfologia macroscópica de <i>Scopulariopsis</i> sp. em SCA após 6 dias de incubação: a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)	115
Figura 36 – Morfologia microscópica de <i>Scopulariopsis</i> sp.: a) Anelóforo (seta); b) Cadeia de aneloconídios; c) Aneloconídio espiculado (Originais)	115
Figura 37 – Morfologia macroscópica de <i>Candida</i> sp. em SCA após 8 dias de incubação: a) Superfície da cultura (seta); b) Reverso da cultura (seta) (Originais)	116
Figura 38 – Morfologia macroscópica de <i>Rhodotorula</i> sp. em SCA após 6 dias de incubação (seta): a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)	116

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das consultas assistidas em medicina geral, por área médica	2
Tabela 2 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das cirurgias assistidas durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por áreas cirúrgicas	4
Tabela 3 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das atividades desenvolvidas na área da imagiologia durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por tipo de exame	5
Tabela 4 – Abordagem sistemática para diagnóstico de um problema dermatológico em coelho e cobaia (Meredith, 2006; Scarff, 2008; Mitchell, 2009; Hawkins & Bishop, 2012)	13

Tabela 5 – Tipos de infecção micótica em animais de acordo com o local de infecção (Fisher & Cook, 1998; Songer e Post, 2005; Quinn et al., 2011)	24
Tabela 6 – Classificação dos fungos relativamente à taxa de crescimento (adaptado de Fisher & Cook, 1998).....	26
Tabela 7 – Classificação dos dermatófitos isolados de animais domésticos baseada na preferência de hospedeiro e habitat natural (Songer & Post, 2005)	27
Tabela 8 – Lesões causadas pelos principais ectoparasitas do coelho e do cobaio e respetiva localização (Harvey, 1995; Hawkins & Bishop, 2012; Miller et al., 2013).....	31
Tabela 9 – Causas responsáveis por falsos-negativos e falsos-positivos após exame Lâmpada de Wood (Asawanonda & Taylor, 1999; Meredith, 2006; Vaden et al., 2009).....	32
Tabela 10 – Morfologia macro e microscópia de <i>M. canis</i> e <i>T. mentagrophytes</i> (Fisher & Cook, 1998; Vaden et al., 2009; Miller et al., 2013).....	34
Tabela 11 – Tratamentos mais frequentes para a dermatofitose em coelho e cobaio.....	37
Tabela 12 – Composição dos meios <i>Sabouraud Chloramphenicol Agar</i> e <i>Dermatophyte Test Medium</i> e funções dos seus componentes (HiMedia Laboratories; Taplin et al., 1969)	43
Tabela 13 – Número de culturas realizadas de acordo com método de colheita, o meio de cultura e na totalidade.....	44
Tabela 14 – Apresentação das variáveis utilizadas nos modelos de regressão.....	46
Tabela 15 – Descrição da população em estudo quanto à espécie, género e idade (FA – Frequência Absoluta; FR – Frequência Relativa)	48
Tabela 16 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das lesões ou doenças cutâneas dos animais apresentados em consulta.....	49
Tabela 17 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das diferentes espécies fúngicas isoladas a partir das amostras biológicas colhidas durante os períodos de estágio na clínica Zoològic Veterinaris, em Barcelona, no HEV da FMV-ULisboa e no total	49
Tabela 18 – Símbolos utilizados para ilustrar a relação entre as variáveis e o respetivo grau de significância	61
Tabela 19 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “local”	61
Tabela 20 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “espécie” ..	62
Tabela 21 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “género”, no total e por espécie.....	63
Tabela 22 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “proveniência”	65
Tabela 23 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “doença dentária adquirida”	66
Tabela 24 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “contacto com outros animais”	67
Tabela 25 – Espécies mais frequentes de dermatófitos zoonóticos e respetivos animais portadores (adaptado de Vigié-Vallanet e Paugam, 2009).....	69
Tabela 26 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias das variáveis “banho” e “produto”, no total e por espécie	69
Tabela 27 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “acesso ao exterior”	70
Tabela 28 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias das variáveis “substrato” e “origem do substrato”	71
Tabela 29 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias das variáveis “alimento”, “ração” e “origem do alimento”	73
Tabela 30 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “medicação”	74
Tabela 31 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) do número de culturas negativas e positivas de acordo com o método de colheita e dos falsos-positivos.....	76
Tabela 32 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das diferentes espécies fúngicas nos diferentes meios de cultura e da alteração da cor do meio relativamente a cada espécie fúngica.....	77
Tabela 33 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) do número de culturas negativas e positivas de acordo com o método de colheita.....	80

Tabela 34 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) dos casos observados em clínica médica durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por área médica, por diagnóstico e por espécie	98
Tabela 35 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) dos actos médicos em medicina preventiva durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por espécie	100
Tabela 36 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das cirurgias em que a estudante participou durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por área cirúrgica, por intervenção cirúrgica e por espécie	100
Tabela 37 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) dos exames imagiológicos em que a estudante participou durante o estágio no HEV da FMV-ULisboa, por tipo de exame e por espécie	101
Tabela 38 – Taxonomia das espécies fúngicas com maior relevância em medicina veterinária (Samanta, 2015)	103
Tabela 39 – Apresentação das fontes bibliográficas em que as espécies fúngicas encontradas neste estudo já foram isoladas a partir da pele e pelo tanto nas espécies em estudo, coelho e cobaio, como noutras espécies animais (Legenda: Co – Coelho; Cb – Cobaio; C – Cão; G – Gato; O – Outro)	106
Tabela 40 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos isoladas em cultura	107
Tabela 41 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos leveduriformes isoladas em cultura	116
Tabela 42 – Resultados da análise de regressão entre a variável dependente “positividade na cultura micológica” e as variáveis independentes consideradas	117
Tabela 43 – Resultados da análise de regressão entre a variável dependente “número de espécies fúngicas” e as variáveis independentes consideradas	118

Lista de Siglas

DNA – <i>DeoxyriboNucleic Acid</i>
DTM – <i>Dermatophyte Test Medium</i>
FMV-ULisboa – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa
GMS – <i>Grocott's Methenamine Silver</i>
HEV – Hospital Escolar Veterinário
ITS – <i>Internal Transcribed Spacer</i>
KOH – Hidróxido de Potássio
MIMV – Mestrado Integrado em Medicina Veterinária
PAAF – Punção Aspirativa com Agulha Fina
PAS – <i>Periodic Acid-Schiff</i>
PCR – <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDA – <i>Potato Dextrose Agar</i>
RFLP – <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
SA – <i>Sabouraud Agar</i>
SCA – <i>Sabouraud Chloranfenicol Agar</i>
SDA – <i>Sabouraud Dextrose Agar</i>
TC – Tomografia Computorizada
UIDI – Unidade de Isolamento para Doenças Infeciosas
VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

Parte I – Relatório de estágio

1. Actividades desenvolvidas no período de estágio

O período de estágio final do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) decorreu entre 25 de setembro de 2017 e 10 de agosto de 2018, perfazendo um total de aproximadamente 1700 horas de trabalho. Foi dividido em três componentes práticas. Primeiramente a estudante realizou um estágio não curricular na clínica Zoològic Veterinaris em Barcelona, de 25 de setembro a 26 de janeiro. Este estágio é referido pois foi durante esse período iniciada a colheita de amostras para o estudo descrito nesta dissertação. Em segundo lugar, realizou o estágio curricular no Hospital Escolar Veterinário (HEV) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa) de 5 de fevereiro a 3 de agosto. Por fim, durante esse mesmo período realizou trabalho prático no Laboratório de Micologia da FMV-ULisboa, durante o tempo de estágio no HEV, com vista ao processamento das amostras recolhidas tanto na clínica Zoològic Veterinaris em Barcelona como no HEV.

1.1. Zoològic Veterinaris

Esta clínica, situada em Barcelona, é uma clínica veterinária para animais de companhia, animais exóticos e zoológicos. A escolha deste local de estágio foi devida ao seu prestígio na área da medicina dos novos animais de companhia, área de grande interesse da estudante, e ao desejo desta em maior contacto com uma maior variedade de espécies, não desprezando a medicina de pequenos animais, tão transversal à atividade de medicina de qualquer espécie. Ao longo deste primeiro estágio, que decorreu ao longo de cerca de 500 horas, foram realizadas atividades no âmbito da medicina interna de animais de companhia e exóticos, cirurgia, medicina preventiva, enfermagem e cuidados primários em internamento. Em situações pontuais foi possível acompanhar médicos e auxiliares veterinários ao banco de sangue da própria clínica e em consultas ao domicílio, nomeadamente centros de criação, coleções privadas e instituições públicas detentoras de animais.

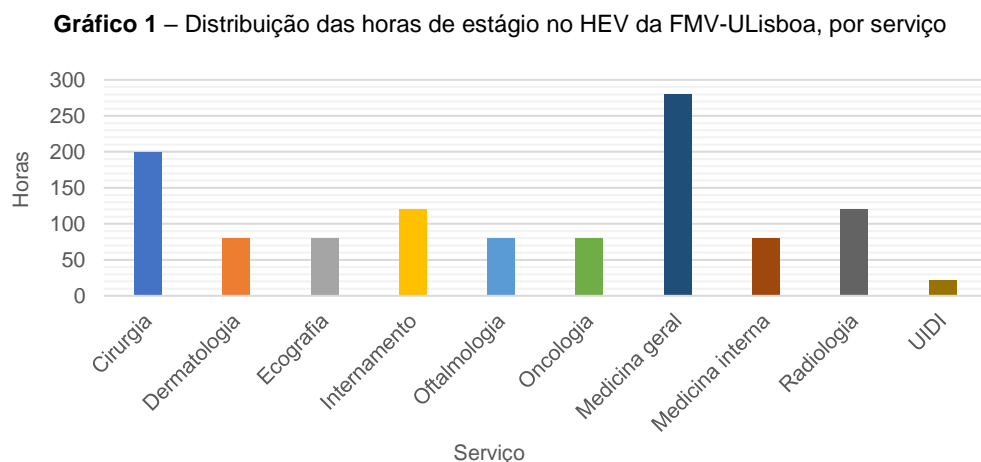
Foram assistidos animais de inúmeras espécies, tanto cão e gato, como pequenos mamíferos exóticos, aves e répteis e foi iniciada a recolha de amostras para o presente estudo.

Por fim, um estágio fora do país não traz apenas conhecimentos académicos como também enriquecimento a nível pessoal. Todo o processo de aprendizagem de um idioma diferente, a vivência numa cidade estrangeira, a oportunidade de conhecer pessoas em contexto profissional e o enquadramento numa cultura diferente foi um desafio extremamente enriquecedor.

1.2. Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária

No estágio curricular no HEV da FMV-ULisboa, que decorreu ao longo de aproximadamente 1100 horas, o horário dos estagiários foi distribuído de modo a contactar com todos os serviços do

hospital, nomeadamente cirurgia, dermatologia, ecografia, internamento, oftalmologia, oncologia, medicina geral, medicina interna, radiologia e Unidade de Isolamento para Doenças Infeciosas (UIDI) (Gráfico 1).



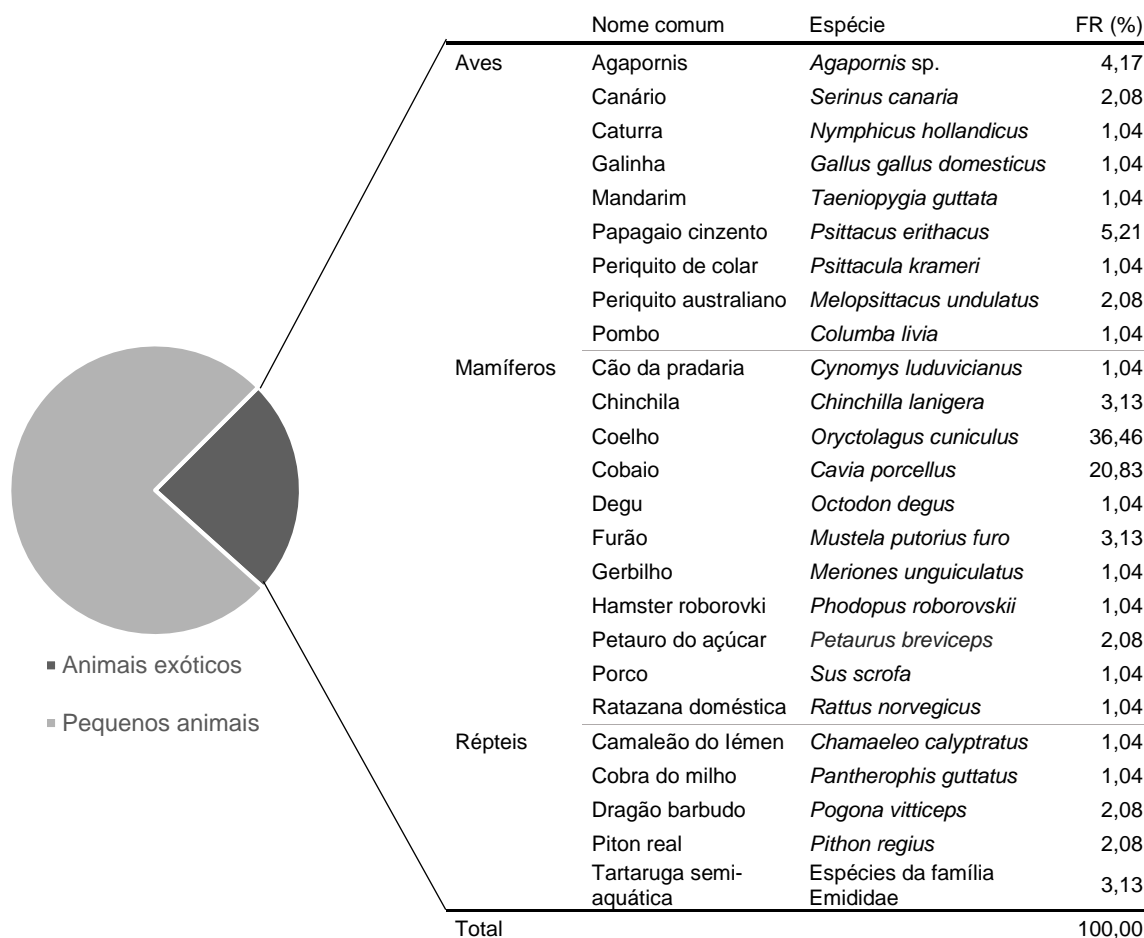
No serviço de medicina geral foram desenvolvidas competências em diversas áreas médicas (Tabela 1), incluindo comunicação com o tutor do animal em consulta, recolha da anamnese, execução de pequenos procedimentos, tais como colocação de catéter venoso periférico, venopunção para colheita de sangue, colheita de material para diagnóstico através de citologias cutâneas, citologias auriculares e Punções Aspirativas com Agulha Fina (PAAF), discussão de diagnósticos diferenciais e exames complementares a aplicar, participação em atos de medicina preventiva (vacinação, desparasitação e identificação eletrónica) e administração de fármacos.

Tabela 1 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR)
das consultas assistidas em medicina geral, por área médica

Área médica	FA	FR (%)
Cardiologia	6	1,67
Comportamento	3	0,83
Dermatologia	59	16,39
Doenças imunomediadas	3	0,83
Doenças infecciosas	22	6,11
Doenças parasitárias	16	4,44
Endocrinologia	14	3,89
Estomatologia	15	4,17
Gastroenterologia	22	6,11
Medicina preventiva	76	21,11
Neurologia	15	4,17
Oftalmologia	31	8,61
Oncologia	33	9,17
Ortopedia	6	1,67
Otorrinolaringologia	5	1,39
Pneumologia	10	2,78
Teriogenologia	3	0,83
Urologia	21	5,83
Total	360	100,00

Entre todos os casos observados, a maioria corresponde a consultas de pequenos animais de companhia, cão e gato, como se pode observar no Gráfico 2. No entanto, dado o interesse da estudante em medicina de animais exóticos, foi feito um esforço para seguir mais proximamente este tipo de consultas, acompanhando sempre que possível a sua co-orientadora, Dr.^a Ana Reinho, e a Dr.^a Ana Carvalho que também realiza consultas em medicina de animais exóticos no HEV da FMV-ULisboa.

Gráfico 2 – Proporção de espécies observadas em consulta e Frequência Relativa (FR) das espécies de animais exóticos observadas no HEV da FMV-ULisboa



Na categoria dos animais exóticos os mais frequentemente apresentados a consulta são os mamíferos exóticos, principalmente o coelho (*Oryctolagus cuniculus*) e o cobaio (*Cavia porcellus*). Relativamente às aves, as mais frequentes são os papagaios cinzentos (*Psittacus erithacus*); por último, os répteis mais comuns são tartarugas da família Emididae (Gráfico 2). No serviço de cirurgia a estudante desenvolveu atividades tais como a receção dos animais para cirurgia, avaliação e interpretação de análises pré-cirúrgicas, colocação de catéter venoso periférico, preparação e administração de pré-medicação, indução anestésica, entubação endotraqueal, preparação do campo cirúrgico, controlo anestésico, preparação da mesa cirúrgica, posicionamento do animal, realização de suturas e monitorização pós-cirúrgica do animal (Tabela 2).

Tabela 2 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das cirurgias assistidas durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por áreas cirúrgicas

Área cirúrgica	FA	FR (%)
Cardiovascular	1	1,11
Dermatologia	9	1
Estomatologia	4	4,44
Gastroenterologia	1	1,11
Oftalmologia	5	5,56
Outras cirurgias de tecidos moles	4	4,44
Neurologia	7	7,78
Ortopedia	12	13,33
Teriogenologia	10	11,11
Urologia	2	2,22
Total	90	100,00

No serviço de oncologia as atividades desenvolvidas incluíram a receção dos animais para tratamentos de quimioterapia, auxílio na preparação de fármacos utilizados nos mesmos tratamentos e sua administração, seguimento de animais oncológicos em consultas de reavaliação e assistência em consultas de oncologia, assim como realização de atos médicos de diagnóstico utilizados frequentemente em oncologia (PAAF e citologia) e discussão de casos clínicos.

No serviço de dermatologia foi realizada a recolha da anamnese mais dirigida a problemas dermatológicos, recolha de amostras biológicas através de raspagens, execução de citologias e respetiva coloração e interpretação, tricogramas, biópsias, observação da realização de testes intradérmicos e discussão dos casos observados.

No serviço de oftalmologia foram adquiridas diversas competências, incluindo a realização do exame oftálmico completo – teste de Schrimmer, teste da fluoresceína, medição da pressão intra-ocular, biomicroscopia, exame oftalmoscópico direto e indireto – e foi também prestado auxílio ao médico veterinário oftalmologista na execução de outros exames mais complexos, como eletrorretinografia, gonioscopia e ecografia ocular. Além disso, durante as cirurgias oftalmológicas foi dada a oportunidade de assumir o papel de ajudante de cirurgia, circulante ou anestesista.

No serviço de radiologia a estudante contactou com os métodos de diagnóstico de radiografia e Tomografia Computorizada (TC) (Tabela 3) e executou tarefas tais como receção dos animais para exame, colocação de catéteres venosos periféricos, entubação endotraqueal, indução e monitorização da recuperação anestésica, posicionamento apropriado do animal para o exame e seleção de constantes radiográficas, assim como observação e discussão dos exames e participação na elaboração do respetivo relatório, tendo sido promovida uma aprendizagem da interpretação dos mesmos.

No serviço de ecografia a estudante recebeu os animais para exame, realizou a tricotomia prévia e, para além da observação da ecografia, foi-lhe dada a oportunidade de realizar o exame em animais internados.

Tabela 3 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das atividades desenvolvidas na área da imagiologia durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por tipo de exame

Exame	FA	FR (%)	Tipo de exame	FA	FR (%)
Ecografia	77	38,50	Abdominal	70	90,91
			Cardíaca	6	7,79
			Pélvica	1	1,30
Endoscopia	10	5,00	Colonoscopia	1	10,00
			Gastrosopia	2	20,00
			Rinoscopia	5	50,00
			Videotoscopia	2	20,00
Radiografia	68	34,00	Abdómen	7	10,29
			Crânio	4	5,88
			Esqueleto axial	3	4,41
			Esquelo apendicular	23	33,82
			Mielografia	3	4,41
			Tórax	28	41,18
			Abdómen	4	8,89
Tomografia Computadorizada	45	22,50	Crânio	23	51,11
			Coluna	10	22,22
			Membros	3	6,67
			Tórax	5	11,11
Total	200	100,00		200	100,00

No internamento geral, a estudante realizou turnos de doze horas, diurnos e noturnos, e prestou auxílio ao médico e enfermeiro veterinário em todas as tarefas de cuidados básicos dos animais. Assim sendo, participou na monitorização dos animais, alimentação, higiene, preparação e administração dos fármacos, fisioterapia e outros pequenos procedimentos tais como realização de pensos, algaliação e monitorização de transfusões sanguíneas. Deparou-se também com diversos casos de emergência e animais críticos, o que proporcionou uma aprendizagem que contribuiu para uma maior confiança enquanto clínica.

Na UIDI a estudante pôde adquirir competências relativas à monitorização de animais com doenças infecciosas ou suspeita das mesmas, cuidados básicos de internamento e discussão de casos clínicos. Foi adquirido também um conhecimento aprofundado das regras de biossegurança necessárias à abordagem destas doenças.

No Anexo 1 encontram-se discriminadas as frequências absolutas e relativas dos casos observados em cada área médica, bem como os atos de medicina preventiva, as cirurgias e os exames imagiológicos realizados em que a estudante participou, por espécie.

Por fim, fizeram parte do estágio no HEV apresentações sobre variados temas para médicos veterinários e estagiários. A estudante realizou, em junho de 2018, uma apresentação cujo tema foi “Urianálise de gatos – Análise macroscópica da urina”.

1.3. Laboratório de Micologia da FMV-ULisboa

Durante o estágio no Laboratório de Micologia da FMV-ULisboa foram ocupadas cerca de 150 horas em trabalho laboratorial.

As atividades desenvolvidas foram variadas, desde a recolha e acondicionamento de amostras biológicas, à preparação de meios de cultura para propagação de fungos, sementeira dos mesmos, observação diária das colónias e identificação morfológica e microscópica de fungos filamentosos e leveduriformes. As tarefas desenvolvidas nesta componente do estágio serão descritas mais promenorizadamente na seção “6. Materiais e métodos”.

Parte II – Revisão bibliográfica

2. Coelho e cobaio como animais de companhia

O coelho (*Oryctolagus cuniculus*) (lagomorfo) e o cobaio (*Cavia porcellus*) (roedor caviomorfo) são animais de estimação cada vez mais frequentes, enquadrando-se na categoria de animais exóticos (Campbell-Ward & Meredith, 2014; Johnson-Delaney, 2014), para os quais não existe uma definição única. Um animal exótico pode definir-se como qualquer animal não nativo de determinada zona geográfica, ou como um animal que não pertence aos animais de companhia tradicionais e aos animais de produção, tais como cão, gato, vaca, porco, ovelha, cabra e galinha. No entanto, numa abordagem mais generalista, atualmente considera-se animal exótico qualquer animal de estimação que não os tradicionais animais de companhia cão e gato (Hergovich, Mauerer & Riemer, 2015).

O coelho e o cobaio têm sido utilizados, desde há vários séculos, para criação com vista à obtenção de alimento ou peles e em experimentação animal (Campbell-Ward & Meredith, 2014; Johnson-Delaney, 2014). De facto a pele destes animais tem sido frequentemente utilizada como modelo de estudo correspondente à pele humana (Meredith, 2006), uma vez que o coelho e o cobaio são pequenos mamíferos, cuja pele e pelo apresentam uma estrutura básica e função semelhantes às dos outros mamíferos (Bensignor, 2010a). O cobaio já foi usado como modelo para o estudo da reação inflamatória e da evolução de feridas e queimaduras devido às semelhanças das características fisiológicas da sua pele com a do Homem (Hoar, 1976). No entanto, há algumas diferenças nestas espécies que devem ser tidas em consideração (Meredith, 2006), e que serão descritas posteriormente.

Para além da crescente expansão na popularidade dos animais exóticos nos últimos anos, a atitude dos tutores em relação a estes novos animais de estimação tem-se alterado. Antigamente, estes animais eram considerados uma novidade e alvo de poucos cuidados. Hoje em dia, os seus tutores encontram-se cada vez mais preocupados com a sua saúde, levando-os frequentemente à consulta médico-veterinária (Hoppmann & Barron, 2007b).

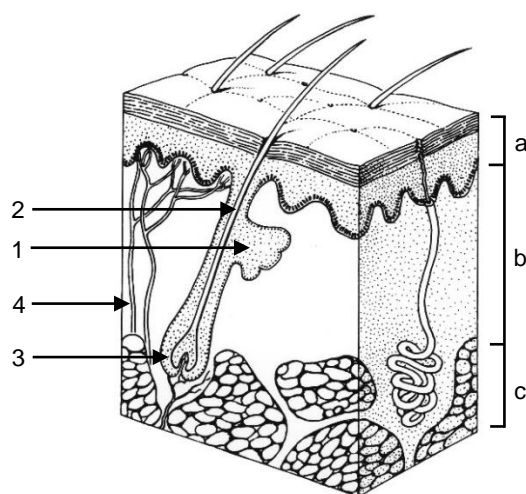
Os coelhos podem ser transmissores de algumas zoonoses aos tutores. As mais importantes são promovidas por agentes cutâneos, tais como dermatofitose (*Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*) e sarna (*Cheyletiella parasitovorax*). Menos frequentemente podem ser transmissores de agentes de doença sistémica, como seja *Encephalitozoon cuniculi*, sendo os indivíduos imunossuprimidos um grupo de risco. Relativamente ao cobaio, as principais zoonoses que podem transmitir ao tutor são também as promovidas por agentes cutâneos, como a dermatofitose (*Trichophyton mentagrophytes*) e sarna (*Trixacarus caviae* e *Chirodiscoides caviae*) (White, Bourdeau & Meredith, 2002; Hawkins & Bishop, 2012; Keeble, Meredith & Richardson, 2016).

3. Dermatologia do coelho e do cobaio

3.1. Particularidades fisiológicas cutâneas no coelho e cobaio

A pele do coelho e do cobaio tem estrutura e funções semelhantes à dos outros mamíferos (Bensignor, 2010a), assim como o pelo (Meredith, 2006) (Figura 1); no entanto, para avaliar problemas dermatológicos nestas espécies é importante saber reconhecer o que é normal e fisiológico em ambas as espécies e em diferentes raças (Quesenberry, Donnelly & Mans, 2012).

Figura 1 – Esquema da pele do coelho e cobaio, semelhante à dos outros mamíferos (adaptado de National Cancer Institute, 2001): a – Epiderme, b – Derme, c – Hipoderme;
1 – Glândula sebácea, 2 – Haste do pelo, 3 – Folículo do pelo, 4 – Vasos sanguíneos



3.1.1. Espessura da pele

A espessura da pele do coelho e cobaio varia de acordo com a espécie, localização corporal, gênero e estado hormonal (Harcourt-Brown, 2002; Meredith, 2006).

A pele do coelho é fina e sensível comparativamente com a do cão, gato e outras espécies de animais exóticos (Hess & Tater, 2012; Turner, Brash & Smith, 2018b). O coelho macho inteiro pode desenvolver um espessamento da pele ao longo do dorso (Harcourt-Brown, 2002).

3.1.2. Pelagem

O crescimento do pelo é cíclico e sazonal, passando por fases de crescimento e muda. Cada ciclo consiste numa fase anagénica (ou crescimento), em que o pelo está em crescimento ativo no folículo; fase telogénica (ou descanso), quando o pelo morto é retido no folículo e depois cai; e fase catagénica (ou transicional), que ocorre entre as duas fases referidas (Meredith, 2006).

O ciclo do pelo é controlado por muitos fatores, incluindo o fotoperíodo, temperatura ambiental, nutrição, estado de saúde geral, influência hormonal, stress e genética (Meredith, 2006; Miller, Griffin & Campbell, 2013). A muda no coelho e cobaio ocorre na primavera e no

outono, mas esta é mais notória quando os animais vivem no exterior e estão mais suscetíveis a alterações sazonais. A temperatura desempenha uma função indireta – se é demasiado elevada o consumo de alimento diminui e a qualidade da pelagem altera-se. As hormonas tiroideias exercem uma ação estimulante na fase anagénica, ao contrário do estrogénio e corticóides (Meredith, 2006; Hadjaje, 2010).

No coelho o ciclo do pelo é sincronizado, o que significa que quando está a ocorrer a muda os folículos pilosos de uma determinada zona sincronizam, sendo que os pelos adjacentes estão na mesma fase do ciclo do pelo. O pelo cresce em ondas, começando na cabeça (Bensignor, 2010a) ou superfície ventral, entre os membros anteriores, e espalhando-se dorsalmente e caudalmente. Este tipo de crescimento ocorre também na maioria dos roedores, com exceção do cobaio (Meredith, 2006).

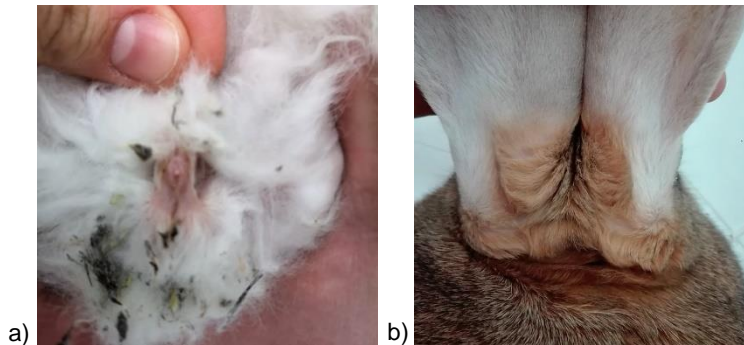
Os láparos nascem totalmente desprovidos de pelo. Aos quatro dias inicia-se o crescimento de pelo fino ao nível do curvilhão e que depois cresce em todo o corpo. Este é substituído progressivamente até às 9 semanas de vida. Depois disso é iniciada uma muda que dura quatro a cinco semanas, dando lugar ao manto adulto, que se completa aos 6-8 meses de idade (Hadjaje, 2010). A pelagem de inverno é mais comprida e homogénea do que a de verão, e as fibras e colagénio da derme apertam-se, dando à pele um aspeto mais sólido (Hadjaje, 2010). Por sua vez, a pelagem dos cobaios é igualmente mais escassa nos juvenis que nos adultos (Turner, Brash & Smith, 2018a).

Há raças que possuem particularidades ao nível da pelagem. Por exemplo, o coelho Rex é desprovido de pelo no curvilhão (Hadjaje, 2010). Nesta raça existe um defeito no crescimento do pelo, não possuindo pelos primários, o que resulta numa pelagem curta e aveludada. Como o pelo ao nível da superfície plantar também é mais fino, esta raça encontra-se predisposta a pododermatite (Campbell-Ward & Meredith, 2014; Turner et al., 2018b). O coelho Angorá tem um maior comprimento de pelo, no mínimo 7 cm, devido a uma fase anagénica particularmente comprida que dura até 14 semanas, enquanto que o coelho Neozelandês branco dura apenas 5 semanas (Turner et al., 2018b). Os cobaios da raça Abissínia possuem remoinhos na pelagem nos quais o centro, a partir do qual o pelo cresce em círculo, é desprovido de pelo, não devendo ser confundidas com zonas de alopecia ou doença dermatológica. As raças Teddy e Texel têm um pelo mais denso, áspero e bigodes enrolados, apresentando tendência para pele seca e descamação (Hawkins & Bishop, 2012). Por sua vez, a raça Rex não possui pelos primários, tal como a raça Rex do coelho (Meredith, 2006). Existem raças de cobaios desprovidas de pelo (*Skinny*, *Baldwin*), sendo que não devem ser confundidos com outros sem pelo devido a imunodeficiências (Turner et al., 2018a).

Podem também existir zonas de alopecia fisiológicas. Na maioria das espécies de pequenos mamíferos o corpo está coberto por uma espessa camada de pelo, exceto à volta da boca e nariz e na superfície plantar das extremidades (Meredith, 2006). No coelho, as áreas inguinais em ambos os sexos e sacos escrotais no macho são desprovidas de pelo (Figura 2-a), assim

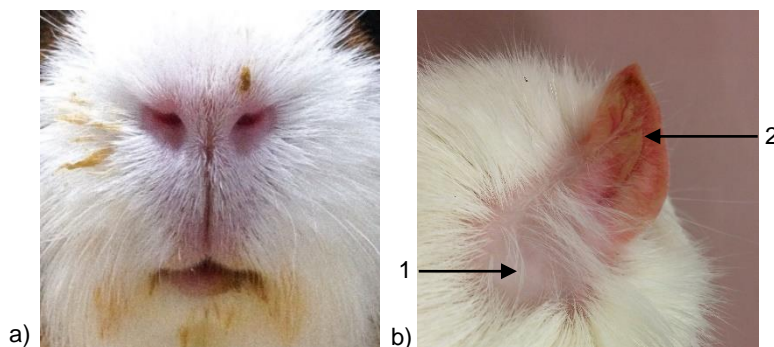
como a área ao redor dos mamilos (O'Malley, 2005). A zona posterior do pescoço é também frequentemente desprovida de pelo ou pode apresentar pelo muito fino (Figura 2-b). A densidade do pelo nesta área varia com a sazonalidade e estado hormonal. Se a alopecia se estender caudalmente para o dorso, já é relevante procurar a sua causa (Harvey, 1995).

Figura 2 – Zonas de alopecia ou hipotricose fisiológicas no coelho: a) Área inguinal – nesta zona localizam-se glândulas sebáceas; b) Zona posterior do pescoço (Originais)



Por sua vez, nos cobaios o pelo é escasso entre o nariz e os lábios, ao redor dos lábios (Figura 3-a), e a parte externa do pavilhão auricular, atrás das orelhas (Figura 3-b) e as almofadinhas plantares são praticamente desprovidas de pelo (Hawkins & Bishop, 2012).

Figura 3 – Zonas de alopecia ou hipotricose fisiológicas no cobaio: a) Entre o nariz e os lábios e ao redor dos lábios; b) Parte externa dos pavilhões auriculares (1) e atrás das orelhas (2) (Originais)

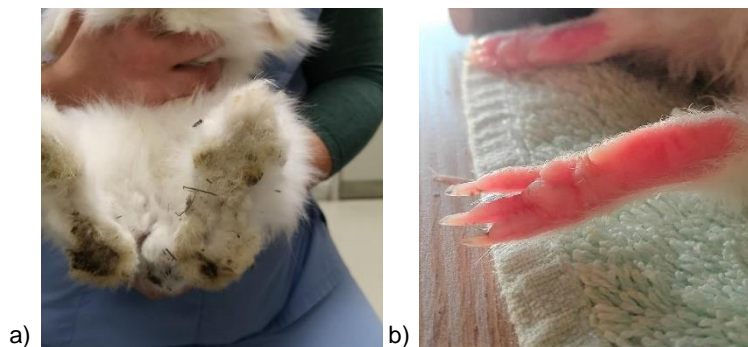


3.1.3. Almofadinhas plantares

Estas estruturas são áreas de epiderme espessada e especializada de modo a proteger contra traumatismos mecânicos e com depósitos de gordura de modo a absorver o impacto (Meredith, 2006).

Os coelhos possuem cinco dígitos nos membros anteriores e quatro dígitos nos posteriores, e não têm almofadinhas plantares; em vez disso, os dígitos e metatarsos estão cobertos por uma pele e pelo espessos (Figura 4a) (Meredith, 2006; Hadjaje, 2010). O cobaio, por sua vez, possui quatro dígitos nos membros anteriores, três dígitos nos membros posteriores e almofadinhas plantares suaves desprovidas de pelo (Figura 4b) (O'Malley, 2005).

Figura 4 – Extremidades do coelho e cobaio: a) O coelho possui pelo a cobrir os dígitos e metatarsos; b) O cobaio possui almofadinhas plantares suaves desprovidas de pelo (Fotografia cedida por Mafalda Paixão)



3.1.4. Garras

As garras consistem em epiderme espessada cornificada, derivada de células espiteliais especializadas sobrejacentes a derme vascularizada proeminente na ponta das falanges (Meredith, 2006). Nos coelhos e cobaio as garras não são retráteis (Miller et al., 2013).

3.1.5. Glândulas sebáceas

Estas glândulas são importantes na marcação territorial e comunicação (Meredith, 2006). Os coelhos são animais muito territoriais e possuem, tanto o macho como a fêmea, glândulas que servem para marcação de território. As glândulas sebáceas dos coelhos encontram-se na zona do mento (glândula submandibular, que roçam em objetos e pessoas para demonstrar territorialidade), no prepúcio e nas extremidades posteriores. Possuem também glândulas sebáceas modificadas na zona inguinal (Figura 2-a) (glândulas inguinais, uma de cada lado da linha anogenital) e na zona retal (glândulas anais) (Hadjaje, 2010; Turner et al., 2018b). Os cobaio têm uma grande glândula androgênio-dependente acima da cauda (Figura 5), que reduz após a orquiectomia e que não deve ser confundida com uma alteração patológica; possui ainda outras glândulas ao redor do ânus (Meredith, 2006; Viaud, 2010; Quesenberry et al., 2012).

Figura 5 – Glândula sebácea acima da cauda no cobaio (Fotografia cedida por Mafalda Paixão)



3.2. Afeções dermatológicas do coelho e do cobaio

Como referido anteriormente, a qualidade do pelo encontra-se relacionado com o estado de saúde do animal, e é influenciada pelo seu estado nutricional e pela presença de doença concomitante (Turner et al., 2018a; Turner et al., 2018b).

A doença dermatológica em coelho e cobaio de companhia é um achado frequente em consulta, seja como afeção primária ou manifestação sistémica de doença (Hoppmann & Barron, 2007a). Pelo contrário, em contexto silvestre os problemas dermatológicos são relativamente raros devido a vários fatores. Em primeiro lugar, os coelhos silvestres têm um pelo curto que não se embaraça tão facilmente como os de algumas raças de coelhos de companhia de pelagem longa (como o Angorá). Têm também uma rotina de limpeza entre animais que faz parte do seu comportamento social, não estão confinados a locais de reduzidas dimensões em possível contacto com urina e fezes, e geralmente não são obesos (Harcourt-Brown, 2002).

Os animais saudáveis limpam a sua pelagem frequentemente. No entanto, muitos coelhos de companhia têm problemas de saúde subjacentes que não lhes permitem a realização de uma limpeza adequada e os animais que vivem isolados não realizam a rotina de limpeza social. Os animais com doença dentária têm maior probabilidade de desenvolver doença dermatológica devido a uma detioração do estado nutricional e diminuição da condição corporal, devido à humidade resultante da salivação que lhe está associada e à dor que leva a uma redução da capacidade para limpeza da pelagem. A limpeza requer uma certa flexibilidade, impossibilitada em animais obesos ou com problemas músculo-esqueléticos ou neurológicos (Harcourt-Brown, 2002; d'Ovidio & Santoro, 2013; Turner et al., 2018b).

Tendo isto em consideração, é muito importante avaliar a causa subjacente ao problema dermatológico e, para isto, realizar uma anamnese detalhada e um exame físico completo (Harcourt-Brown, 2002).

3.2.1. Abordagem ao diagnóstico dermatológico

No passado, muitos problemas dermatológicos em animais exóticos eram tratados empiricamente; atualmente os médicos veterinários têm consciência que o tratamento adequado destes problemas envolve um diagnóstico completo, tal como acontece com o cão e gato (Mitchell, 2009).

Os princípios do diagnóstico dermatológico utilizados em pequenos mamíferos exóticos são semelhantes aos utilizados na dermatologia dos animais de companhia (Meredith, 2006). Quando estes animais se apresentam à consulta devido a um problema dermatológico, é importante que o médico veterinário não se foque unicamente nessa área, mas que procure outros problemas de saúde ou de manejo subjacentes, pois podem ser a causa primária para a alteração dermatológica. Assim sendo, deve ser realizado um historial detalhado e exame físico completo para formular uma lista de problemas (Harcourt-Brown, 2002; Mitchell, 2009),

de modo a aplicar uma abordagem sistemática ao diagnóstico do problema dermatológico, como descrito na Tabela 4.

Tabela 4 – Abordagem sistemática para diagnóstico de um problema dermatológico em coelho e cobaio
(Meredith, 2006; Scarff, 2008; Mitchell, 2009; Hawkins & Bishop, 2012)

1	Identificação do problema	Queixa do tutor	
2	Identificação do animal	Espécie Raça Género Idade	Zonas de alopecia fisiológicas Características especiais das raças Predisposição para doenças
3	Historial médico completo	Proveniência Há quanto tempo foi adquirido Doenças Tratamentos	
4	Maneio	Tamanho da jaula Temperatura e humidade Substrato Dieta Fornecimento de água Limpeza e frequência da mesma Animais com que vive	
5	História específica relacionada com o problema dermatológico	Duração do problema Se há mais animais afetados Se há pessoas afetadas Tratamentos previamente realizados e resposta Se já foram detetados parasitas Se o animal exhibe prurido ou desconforto	
6	Exame clínico	Geral Dermatológico	Exame de estado geral Espessura da pele, qualidade e textura do pelo, grau de prurido
		Hematologia	Avaliar sinais de doença inflamatória
		Radiologia	Pesquisa de comprometimento ósseo a partir da lesão cutânea, como nas pododermatites ou abscessos
		Raspagem	Observação de ectoparasitas
		Tricograma	Observação de ectoparasitas ou ovos de ectoparasitas Deteção de <i>barbering</i>
7	Testes de diagnóstico	Teste da fita-cola	Observação de ectoparasitas, bactérias ou leveduras após coloração
		Citologia	Avaliar lesão cutânea
		Lâmpada de Wood	Dermatófitos (<i>M. canis</i>)
		PAAF	Acesso Neoplasia
		Microbiologia	Cultura bacteriana Cultura fúngica
		Biópsia	Neoplasia ou adenite sebácea

3.3. Impacto do manejo na saúde dermatológica do coelho e cobaio

O manejo tem muita importância a nível da saúde dermatológica de todos os animais. No entanto, nos animais exóticos existem muitas particularidades que podem influenciar em grande escala a sua saúde (Hoppmann & Barron, 2007a).

A temperatura ambiental deve ser adequada, sendo que o coelho é suscetível a temperaturas elevadas e o cobaio não tolera bem variações de temperatura. A temperatura ideal para o coelho situa-se entre 16°C e 22°C e para o cobaio entre 16°C e 24°C. Para ambas as espécies

deve ser proporcionada uma circulação de ar adequada, sendo que temperaturas e humidade elevadas podem promover o desenvolvimento de doença (Hoppmann & Barron, 2007a; Hoppmann & Barron, 2007b; Vella & Donnelly, 2012; Johnson-Delaney, 2014).

O espaço fornecido deve ser suficiente para os animais que nele habitem. É importante que haja espaço suficiente para dormir, para a realização de várias atividades, tais como comer, beber, realização de exercício e latrina, e deve contar um esconderijo (Hoppmann & Barron, 2007a; Quesenberry et al., 2012; Campbell-Ward & Meredith, 2014; Johnson-Delaney, 2014). A jaula deve conter um substrato adequado, absorvente, não tóxico e este deve ser limpo diariamente. Podem ser utilizados como substrato palha, feno, papel prensado ou papel desfiado que devem ser trocados quando húmidos. Podem também ser utilizadas as aparas de madeira, mas não se de madeiras aromáticas como pinho e cedro pois estas podem libertar vapores responsáveis por infeções respiratórias e dermatites de contacto. Não deve ser utilizado um piso com gradeamento pois estas espécies são predispostas a desenvolver pododermatite (Hillyer, 1994; Hoppmann & Barron, 2007a; Hoppmann & Barron, 2007b; Vella & Donnelly, 2012).

Os coelhos e os cobaios são herbívoros estritos, pelo que a sua dieta deve basear-se em granulado de boa qualidade, feno *ad libitum* e vegetais frescos, sendo extremamente importante garantir um aporte de fibra adequado de modo a garantir uma boa saúde dentária e gastrointestinal. É igualmente muito importante um fornecimento de água constante, numa taça ou garrafa. Os cobaios não conseguem sintetizar vitamina C, portanto é importante fornecer alimentos que a contenham, tais como folhas verdes escuras, pimento verde e vermelho, tomate, bróculo e laranja. A deficiência nesta vitamina pode resultar numa dificuldade na cicatrização de feridas e alguns autores (White, Bourdeau & Meredith, 2003) afirmam que pode ter um papel influente no desenvolvimento de queilites. Relativamente ao fornecimento de água, a garrafa é mais higiénica pois evita que o substrato se molhe tão frequentemente, mas é necessária alguma vigilância para garantir a patência do fluxo de água (Hillyer, 1994; Hoppmann & Barron, 2007b; Campbell-Ward & Meredith, 2014; Johnson-Delaney, 2014).

Os coelhos são animais sociais e gostam de viver acompanhados, podendo fêmeas inteiras ou coelhos de géneros diferentes castrados viver em conjunto. Quando vários coelhos vivem juntos cada um deve ter o seu esconderijo individual e o seu espaço para dormir, mesmo que partilhem as áreas de alimentação e de exercício (Hoppmann & Barron, 2007a; Campbell-Ward & Meredith, 2014). Por sua vez, os cobaios são também seres sociais e preferem viver aos pares ou em pequenos grupos; cobaios que vivam sozinhos podem desenvolver problemas comportamentais que contribuem para a detioração da pele e do pelo (Quesenberry et al., 2012; Johnson-Delaney, 2014).

4. Infecções micóticas no coelho e no cobaio

4.1. Introdução à micologia veterinária

A micologia define-se como a ciência que estuda os fungos. Estão descritas cerca de 80000 espécies de fungos, no entanto apenas menos de 400 têm importância médica e menos de 50 são responsáveis por 90% das infecções fúngicas em animais e no Homem (Mitchell, 2013). Os fungos são ubiquitários. A maioria dos fungos desempenha um papel essencial para o ambiente, degradando e reciclando matéria orgânica, interferindo no ciclo do carbono, azoto e outros nutrientes da biosfera, sendo por isso organismos saprófitas; por outro lado, também contribuem para a produção de alimentos, tais como queijo e cerveja, e de fármacos, tais como penicilina, griseoflavin e ciclosporina (Freitas, 2010).

Por outro lado, estes microrganismos também podem ter uma ação prejudicial, podendo ser responsáveis por infecções nos animais e no Homem, denominadas de micoses. A maioria dos fungos patogénicos são exógenos – vivem no solo, água e matéria orgânica – mas também podem fazer parte da microbiota comensal dos seres vivos e provocar doença quando existe algum desequilíbrio orgânico (Mitchell, 2013). Existem também alguns fungos com capacidade alergénica para o cão e gato, tal como observado no Homem (Reedy, Miller & Willemse, 1997). Podem ainda exercer um forte impacto ao nível do setor agrícola pois são também fitopatogénicos. Deste modo, podem provocar grandes perdas económicas ao nível da produção de certos alimentos como o arroz e o milho (Mitchell, 2013).

A micologia tem vindo a ganhar destaque devido à emergência e re-emergência de infecções fúngicas tanto em animais como em humanos, com destaque para a emergência de *Prototheca* e *Lagenidium* em animais de estimação, a re-emergência de *Candida* e *Cryptococcus* em animais e humanos e de dermatofitoses em animais (Samanta, 2015).

Nas últimas três décadas os fungos têm tido um papel crescente em medicina humana devido ao aumento da prevalência do Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) e dos indivíduos imunocomprometidos devido a transplantes de medula óssea e de órgãos, nos quais são responsáveis por micoses oportunistas (Taboada & Grooters, 2008).

4.2. Características gerais dos fungos

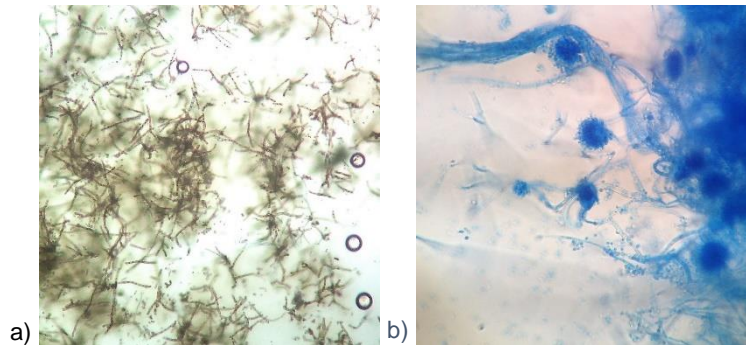
4.2.1. Morfologia

Os fungos são seres eucariotas, unicelulares ou multicelulares, quimio-organotróficos, que não realizam fotossíntese, sem motilidade e que se reproduzem por meio de esporos (Carter & Wise, 2004; Samanta, 2015).

Estes microrganismos podem apresentar três formas fundamentais: fungo filamentoso ou bolor (multicelular), levedura (unicelular) e pseudo-hifa (Samanta, 2015). Os fungos dimórficos (como *Coccidioides immitis* e *Candida albicans*) são capazes de assumir diferentes formas (nestes casos de fungo filamentoso e leveduriforme), dependendo das condições ambientais,

nomeadamente da temperatura (Mitchell, 2013). Devido ao seu dimorfismo térmico, à temperatura de 37°C (temperatura corporal) assumem a forma de levedura, enquanto que a 25°C (temperatura ambiente) apresentam-se como fungo filamentososo (Songer & Post, 2005). Existem fungos com pigmentos escuros, melânicos presentes nas hifas ou parede dos esporos (fungos dematiáceos) ou sem este pigmento (fungos hialinos) (Figura 6) (Songer & Post, 2005).

Figura 6 – Preparação microscópica de fungos com diferentes pigmentos: a) Fungo dematiáceo, com pigmentos melânicos; b) Fungo hialino, sem pigmentos melânicos, corado com azul de Lactofenol (Originais)

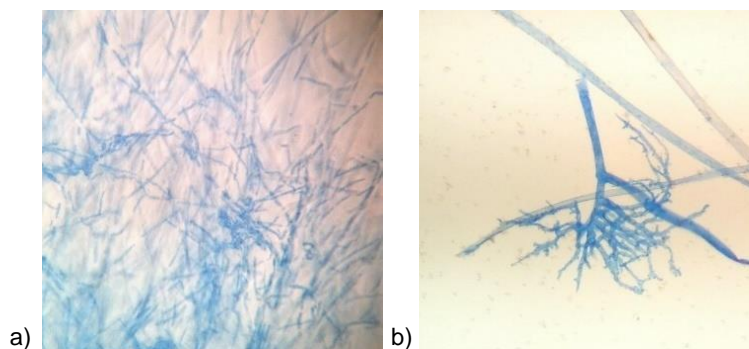


4.2.1.1. Fungos filamentosos

Os fungos filamentosos são essencialmente constituídos por hifas, cuja acumulação durante o crescimento ativo da colónia forma o micélio. As hifas correspondem a estruturas tubulares, com 2 a 10 µm de largura, e que contêm um lúmen delimitado por uma membrana celular e, externamente a esta, uma parede celular rígida composta maioritariamente por quitina. O lúmen das hifas contém protoplasma (Carter & Wise, 2004; Mitchell, 2013).

Existem vários tipos de hifas. As hifas vegetativas penetram no meio de suporte e têm como funções o suporte da colónia e a absorção de nutrientes a partir do substrato. Qualquer parte do micélio pode absorver nutrientes; no entanto, em alguns fungos da ordem Mucorales existe uma estrutura especializada que se assemelha a uma raiz, o rizóide, que se liga ao substrato para absorver nutrientes (Figura 7) (Mitchell, 2013; Samanta, 2015).

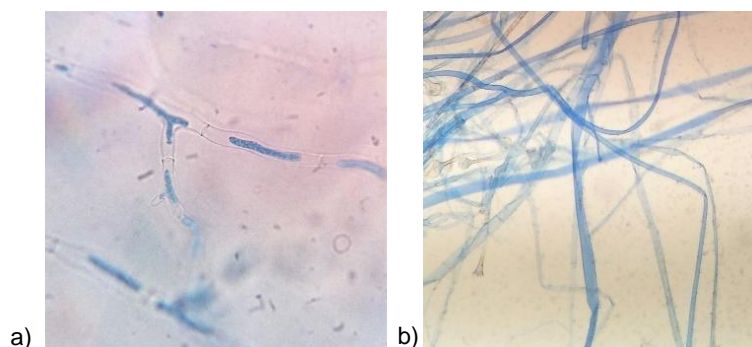
Figura 7 – Preparações microscópicas de fungos filamentosos onde se podem observar alguns elementos fúngicos: a) Micélio (porção vegetativa onde se visualizam apenas hifas); b) Rizóide (estrutura típica de algumas espécies fúngicas da ordem Mucorales) (Originais)



As hifas aéreas correspondem à projeção do micélio acima do substrato, sendo normalmente nesta porção da colônia que, em determinadas condições ambientais, são produzidas as estruturas reprodutoras do fungo (Mitchell, 2013).

Existem hifas septadas e asseptadas (Figura 8). No caso das hifas septadas, o alongamento da hifa ocorre perto da extremidade (extensão apical) através da formação de uma parede transversal à parede celular. A parede celular cresce para dentro do lúmen de modo a formar um septo no qual existe um poro que permite o fluxo do protoplasma e de organelos entre as células (Samanta, 2015). Nas hifas asseptadas o protoplasma é contínuo, sendo multinucleadas; se apresentarem septos, estes ocorrem apenas num número muito pequeno. Pode observar-se o aparecimento ocasional de septos sem poros, que representam um mecanismo de proteção da hifa, permitindo a separação das regiões novas das velhas, a delimitação de estruturas reprodutoras e o isolamento de zonas danificadas (Freitas, 2010).

Figura 8 – Diferentes tipos de hifas: a) Hifa septada; b) Hifa asseptada (Originais)



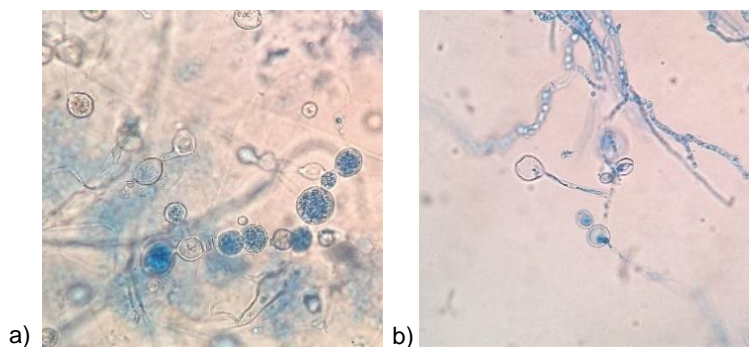
Aquando do isolamento de um fungo filamentoso a partir de uma amostra biológica, a sua taxa de crescimento e morfologia macroscópica e microscópica são as características mais importantes para realizar a sua identificação. Na morfologia microscópica a morfologia e origem (tipo de reprodução) dos esporos fornece indicações preciosas para que se possa realizar a identificação fúngica (Mitchell, 2013). Estas características específicas de cada espécie fúngica serão referidas aquando da descrição da mesma.

4.2.1.2. Fungos leveduriformes

Os fungos leveduriformes, ou leveduras, são microrganismos unicelulares e pleomórficos, pois podem assumir várias formas – alongada, esférica e elítica, com um tamanho entre 3 a 15 μm (Mitchell, 2013). Em meios de cultura artificiais produzem colônias húmidas e mucóides, opacas, muitas vezes de cor bege. Dado que a morfologia macroscópica e microscópica de muitas leveduras são semelhantes, a identificação da espécie necessita geralmente de testes fisiológicos e a avaliação de alguns aspetos morfológicos específicos (Mitchell, 2013; Samanta, 2015).

A pseudo-hifa forma-se quando a levedura, no seu processo de reprodução por gemulação, falha na separação entre as células e forma cadeias que se assemelham a hifas (Figura 9) (Samanta, 2015).

Figura 9 – Preparações microscópicas de fungos leveduriformes: a) Leveduras em processo de gemulação; b) Leveduras e pseudo-hifas (Originais)



4.2.2. Nutrição e metabolismo

A maioria dos fungos filamentosos são aeróbios facultativos ou obrigatórios (Mitchell, 2013), mas as leveduras podem também crescer anaerobicamente (Carter & Wise, 2004).

Os fungos são seres heterotróficos (Carter & Wise, 2004), mais especificamente quimio-organotróficos, pois utilizam compostos químicos como fonte de energia e compostos orgânicos como fonte de elétrons e carbono. Nutrem-se através da absorção a partir do ambiente (saprófitas) ou do hospedeiro (parasitas) (Freitas, 2010; Samanta, 2015). A digestão dos nutrientes ocorre através de enzimas proteolíticas, lipolíticas e glicolíticas (Carter & Wise, 2004).

A maioria dos bolores saprófitas cresce a temperaturas entre os 20°C e os 30°C. Por sua vez, as leveduras patogênicas e a fase de levedura dos fungos dimórficos crescem preferencialmente a 37°C (Samanta, 2015).

Os fungos necessitam de taxas de humidade elevadas, valores de pH ácido (3,8-5,6), alta concentração de açúcares (4-5%), e a presença carbono, fósforo, compostos sulfurados e vestígios de potássio, magnésio, ferro e cálcio. A peptona encontrada em alguns meios de cultura fúngicos (como é o caso do meio Sabouraud e derivados) e a queratina da pele funcionam como fonte de azoto, composto necessário para a síntese de aminoácidos para a formação de proteínas, de purinas e pirimidinas para os ácidos nucleicos, da glucosamina para a quitina da parede celular e de várias vitaminas (Samanta, 2015).

O crescimento dos microrganismos não é dependente de luz visível (Samanta, 2015).

Relativamente à sua multiplicação em laboratório, uma vez que a taxa de crescimento dos fungos é mais lenta em relação à das bactérias, é necessário suplementar os meios de cultura com antibióticos como o cloranfenicol e substâncias com propriedades antifúngicas como a

cicloheximida para prevenir a contaminação por bactérias ou por fungos saprófitas (Samanta, 2015).

O tempo de incubação necessário para a identificação é variável de acordo com a espécie fúngica. A maioria dos fungos requer no mínimo 5 dias para produzir uma colônia identificável. Deste modo, é um diagnóstico bastante mais moroso do que o bacteriológico (Fisher & Cook, 1998).

4.2.3. Taxonomia

A taxonomia fúngica tem estado em constante evolução com as novas descobertas a nível molecular. Tradicionalmente estes microrganismos eram classificados principalmente de acordo com as diferenças morfológicas e com o tipo de reprodução. No entanto, em 2007 foi proposta uma nova classificação em 5 fila: Microspora (Microsporidia), Ascomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota e Glomeromycota. Os fila Ascomycota e Basidiomycota foram colocados num sub-reino criado recentemente chamado Dikarya. Foram propostos dois novos fila: Chytridiomycota e Neocallimastigomycota. A maioria dos fungos pertencentes a Zygomycota foram colocados num sub-filo recentemente criado, denominado Mucormycotina. Cerca de um quinto de todos os fungos, nomeadamente muitas espécies de *Aspergillus*, *Malassezia*, *Penicillium* and *Coccidioides*, não têm estado sexual conhecido. Anteriormente estes fungos faziam parte da classe Deuteromycota, ou Fungi Imperfecti. No entanto, devido ao desenvolvimento científico e às descobertas a nível molecular, estes fungos foram agrupados de acordo com as suas relações evolutivas apesar de não possuírem reprodução sexuada, sendo que muitos destes fungos foram recolocados no filo Ascomycota (Quinn et al., 2011). No Anexo 2 encontra-se uma tabela em que são apresentadas estas relações filogenéticas dos fungos com maior relevância em medicina veterinária.

4.2.4. Reprodução

Os ciclos de vida fúngicos são muito variáveis. Os fungos reproduzem-se por duas formas principais, a forma assexuada e a forma sexuada. As condições ambientais determinam estados de desenvolvimento geneticamente determinados que levam à criação de estruturas especializadas nestes dois tipos de reprodução (Ali, 2013). Algumas espécies exibem apenas reprodução assexuada, em que as células-filhas são geneticamente iguais à célula-mãe; no entanto, cerca de um terço dos fungos são capazes de realizar reprodução sexuada e assexuada (Ali, 2013). Ambas culminam na formação de esporos, sendo que os esporos derivados de reprodução assexuada são denominados estados anamorfos, enquanto que os derivados de reprodução sexuada correspondem a estados teleomorfos (Mitchell, 2013).

Os esporos permitem o desenvolvimento do fungo em condições ambientais desfavoráveis, como dessecação, temperaturas extremas e carência de nutrientes. Por outro lado, também contribuem para a disseminação do fungo, uma vez que são estruturas pequenas e leves que

se propagam facilmente através do ar ou de animais e objetos em movimento (Willey, Sherwood & Woolverton, 2014).

É importante compreender o processo de reprodução fúngica e conhecer os tipos de reprodução existentes, visto que determinadas espécies fúngicas têm algumas características e estruturas reprodutoras específicas que nos permitem a sua identificação através da observação microscópica (Songer & Post, 2005).

4.2.4.1. Reprodução assexuada

Na reprodução assexuada não existe contacto entre órgãos sexuais ou núcleos. São utilizados outros mecanismos que culminam na reprodução do fungo, incluindo fissão, gemulação, fragmentação das hifas ou formação de esporos (Samanta, 2015).

4.2.4.1.1. Fissão

Algumas leveduras multiplicam-se por fissão. A célula-mãe divide-se transversalmente em duas células-filhas pelo processo de mitose, ocorrendo primeiro a divisão do núcleo, seguido da divisão do citoplasma e formação da parede celular. Após a separação das duas células, estas tornam-se independentes (Willey et al., 2014) (Figura 10).

Figura 10 – Esquema representativo da multiplicação fúngica por fissão (Original)



4.2.3.1.2. Gemulação

A grande maioria das leveduras multiplica-se por gemulação (Willey et al., 2014) (Figura 11). Este processo envolve três etapas distintas:

i) Emergência da gémula

Nesta etapa ocorre um estrangulamento da parede celular da célula-mãe, iniciando-se a síntese de novas parede e membrana celulares a partir do local de estrangulamento;

ii) Crescimento da gémula

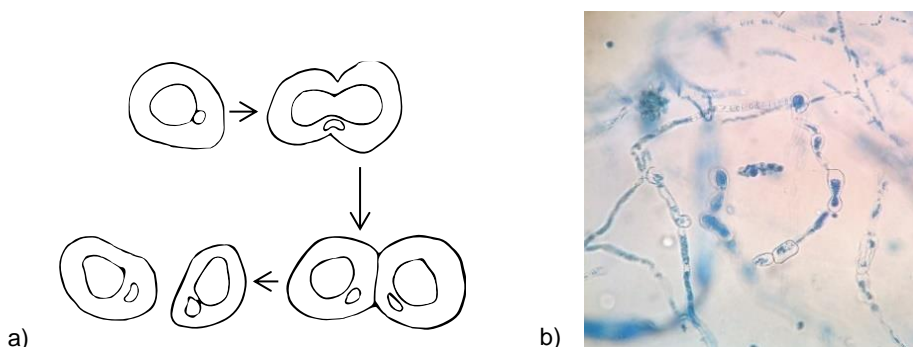
A gémula vai crescendo progressivamente até a parede que separa da célula-mãe da célula-filha ficar completa;

iii) Separação da gémula

Após a separação da gémula forma-se uma cicatriz na parede celular da célula-mãe. Por vezes as gémulas não se separam da célula-mãe e, conseqüentemente, é produzida uma pseudo-hifa que consiste num filamento de células leveduriformes (Ali, 2013; Samanta, 2015).

Figura 11 – Multiplicação por gemulação:

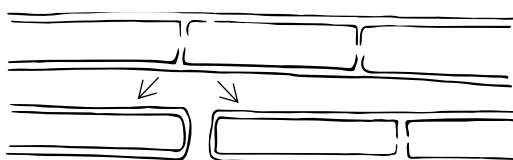
a) Esquema representativo do processo de gemulação; b) Pseudo-hifas (Originais)



4.2.3.1.3. Fragmentação das hifas

A fragmentação pode ocorrer secundariamente a partir de um corte acidental do micélio ou da sua separação mecânica, após os quais a hifa fica dividida em segmentos (Figura 12). Se as condições forem favoráveis pode desenvolver-se um novo micélio a partir de cada segmento (Ali, 2013).

Figura 12 – Esquema representativo da fragmentação das hifas (Original)



4.2.4.1.4. Formação de esporos

Existem vários tipos de esporos fúngicos formados por reprodução assexuada:

i) Esporangiosporos

Este tipo de esporos é produzido por uma hifa reprodutiva especializada, denominada esporangióforo, que termina numa estrutura sacular, o esporângio (Figura 13), que contém muitos esporangiosporos unicelulares (Samanta, 2015);

Figura 13 – Esporângio raturado a libertar esporos (Original)



ii) Conídios

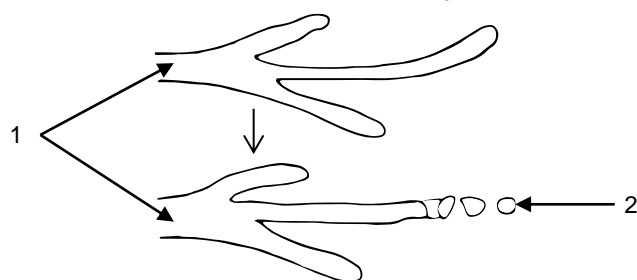
São pequenos esporos assexuados produzidos diretamente nas laterais ou extremos das hifas reprodutivas, denominadas conidióforos, e que não estão envolvidos por um saco (Willey et al., 2014). Existem conídios unicelulares, de menores dimensões (microconídios) e multicelulares, de maiores dimensões (macroconídios) (Samanta, 2015);

iii) Artrosporos

São formados através da separação de células das hifas (Figura 14), produzindo artrosporos unicelulares, que não sobrevivem em condições ambientais desfavoráveis. Este tipo de esporos pode ser observado, por exemplo, em *Geothrichum candidum* (Carter & Wise, 2004; Samanta, 2015);

Figura 14 – Esquema representativo da formação de artrosporos:

1 – Hifas; 2 – Artrosporo (Original)



iv) Clamidosporos

Correspondem a esporos unicelulares, de parede espessa, que ocorrem individualmente ou em cadeia nas hifas. Possuem uma parede celular espessa e resistente, na qual acumulam nutrientes que os permitem resistir a condições ambientais adversas. Quando as condições ambientais voltam a ser adequadas, cada clamidosporo (Figura 15) desenvolve-se formando um novo micélio (Samanta, 2015);

Figura 15 – Clamidosporo (Original)



v) Blastosporo

Os esporos produzidos através do processo de gemulação são denominados de blastosporos (Samanta, 2015), que pode ocorrer, por exemplo, em *Saccharomyces* spp. (Carter & Wise, 2004) (rever Figura 11a).

4.2.4.2. Reprodução sexuada

Os esporos sexuados formam-se menos frequentemente e em menor quantidade do que os esporos assexuados. Este tipo de reprodução ocorre quando existe a junção de núcleos compatíveis, existindo fungos homotáticos ou heterotáticos. Os fungos homotáticos fertilizam-se a si mesmos, produzindo gâmetas sexualmente compatíveis no mesmo micélio (Willey et al., 2014). Os fungos heterotáticos podem existir sob duas formas diferentes: + e –, atuando como macho e fêmea (Samanta, 2015).

Existem diferentes tipos de esporos sexuados: ascosporos, produzidos numa estrutura sacular denominada asco encontrado, por exemplo, em *Saccharomyces*; basidiosporos, formados numa estrutura denominada basídio; zigosporos, esporos com parede espessa; e oosporos (Carter & Wise, 2004; Samanta, 2015).

Os esporos encontram-se protegidos por uma estrutura altamente especializada, denominada corpo frutífero. Os corpos frutíferos para esporos sexuados incluem o cleistotécio, o peritécio, o apotécio e o pseudotécio. O cleistotécio é um corpo frutífero completamente fechado; no peritécio existe um poro através do qual os esporos podem escapar e o apotécio tem a forma de cálice. Dentro dos corpos frutíferos podem existir ainda hifas estéreis (Samanta, 2015).

Esta temática não foi exposta com tanta profundidade quanto a da reprodução assexuada pois, dado ser menos frequente, o seu conhecimento não é tão relevante para a identificação fúngica, tema central desta dissertação.

4.3. Infecções micóticas

Um hospedeiro saudável consegue evitar o desenvolvimento de infecções fúngicas devido a vários fatores. Na generalidade os fungos crescem melhor a temperaturas entre 25°C e 30°C do que à temperatura corporal, de cerca de 37,5°C. Para além disso, necessitam geralmente

de mais oxigénio do que o disponível nos tecidos humanos, visto serem na maioria dos casos microrganismos aeróbios (Fisher & Cook, 1998).

O sistema imunitário dos animais é dotado de uma série de mecanismos de defesa contra as infeções fúngicas. Entre estes mecanismos incluem-se a imunidade inata – presentes independentemente do agente – e também mecanismos específicos de imunidade adquirida desenvolvidos após infeção e doença. A primeira linha de defesa, constituída pela pele e membranas mucosas, associa-se com membranas celulares, fatores celulares e fatores humorais. Durante muito tempo foi considerado que, nas infeções fúngicas, a imunidade celular era importante mas que a imunidade humoral tinha pouco ou nenhum papel na defesa contra este tipo de infeções. No entanto, atualmente é aceite que a imunidade celular é o mecanismo principal de defesa, mas que alguns tipos de anticorpos podem ter um efeito protetor se presentes em quantidade suficiente (Blanco & Garcia, 2008).

Geralmente determinada espécie fúngica afeta tecidos específicos, ou seja, um fungo que normalmente afeta a pele ou o pelo confina-se a esse tipo de tecido e não se alastra para outras áreas. Assim sendo, poucos fungos atingem uma grande variedade de tecidos, precisando de condições muito específicas e favoráveis para que tal aconteça (Fisher & Cook, 1998).

4.3.1. Classificação

As micoses podem ser classificadas tendo em conta o local de infeção, em quatro categorias (Fisher & Cook, 1998) (Tabela 5). Assim os fungos podem ser responsáveis por micoses cutâneas, subcutâneas, sistémicas e oportunistas (Songer & Post, 2005).

Tabela 5 – Tipos de infeção micótica em animais de acordo com o local de infeção
(Fisher & Cook, 1998; Songer e Post, 2005; Quinn et al., 2011)

Infeção	Tecidos envolvidos	Fungos representativos
Superficiais e cutâneas	Pele, unhas, pelos e membranas mucosas	<i>Malassezia</i> , <i>Candida</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Trichosporon beigeli</i> , <i>Epidermophyton</i> , <i>Trichophyton</i> , <i>Microsporum</i>
Subcutânea	Músculos, osso, tecido conjuntivo	<i>Cladosporium</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Fonsecaea</i> , <i>Pseudallescheria</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Sporothrix</i> , <i>Wangiella</i> , <i>Xylohypha</i>
Sistémica	Qualquer tecido – especialmente pulmonar, linfático e sistema circulatório	<i>Blastomyces</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Cryptococcus</i>
Oportunistas	Qualquer órgão ou tecido	<i>Aspergillus</i> , <i>Candida</i> , <i>Mucor</i>

As infeções superficiais e cutâneas atingem o pelo, as unhas, as camadas queratinizadas da pele e as membranas mucosas (Songer & Post, 2005; Quinn et al., 2011).

As micoses subcutâneas atingem o tecido subcutâneo, músculos e os ossos (Songer & Post, 2005), e geralmente resultam de uma lesão traumática que constitui uma porta de entrada

para o fungo. Normalmente a infecção ocorre apenas no local do ferimento (Fisher & Cook, 1998).

As micoses sistêmicas podem afetar qualquer tecido do organismo hospedeiro, invadindo órgãos internos. Estas infecções podem afetar animais com sistema imunitário competente caso a dose infetante seja suficientemente elevada. A maioria das infecções deste tipo transmite-se por via inalatória, tendo início nos pulmões com posterior disseminação hematogénica do microrganismo, ou transmite-se através de uma laceração. Estes fungos apresentam dimorfismo térmico (Fisher & Cook, 1998; Songer & Post, 2005).

Os fungos oportunistas são ou microrganismos ambientais ou comensais do animal que, na inexistência de um fator subjacente, não causam doença. Estes podem afetar uma enorme variedade de tecidos, tendo já sido relacionados com infecções cutâneas, subcutâneas e sistêmicas, que se desenvolvem caso exista algum fator subjacente, como imunossupressão ou traumatismo (Fisher & Cook, 1998; Songer & Post, 2005).

As infecções micóticas devem ser incluídas na lista de diagnósticos diferenciais de qualquer problema crónico de etiologia desconhecida ou não responsivo ao tratamento (Songer & Post, 2005).

4.3.2. Diagnóstico

Para o diagnóstico de uma infecção micótica é possível recorrer a vários testes, tais como exame direto do material biológico, cultura, histopatologia, imunoensaios e diagnóstico molecular (Songer & Post, 2005). Existem ainda métodos de diagnóstico específicos para determinadas espécies que serão posteriormente descritos com mais detalhe.

4.3.2.1. Recolha de amostras

É muito importante a obtenção da amostra apropriada de acordo com a infecção suspeita. Esta deve ser recolhida de locais representativos do processo em questão e em volume adequado (Vaden, Knoll, Smith & Tilley, 2009).

4.3.2.2. Exame microscópico direto

Idealmente as amostras biológicas recolhidas devem ser examinadas ao microscópio antes de ser realizada a cultura (Songer & Post, 2005), na tentativa de obter alguma informação preliminar. A observação de alguns elementos fúngicos como hifas, esporos ou leveduras através deste exame pode dar indicação de que o animal apresenta uma infecção micótica. Além disso, a presença destes elementos pode auxiliar a identificação do fungo e/ou a escolha do meio em que a amostra deve ser cultivada (Fisher & Cook, 1998).

4.3.2.3. Cultura fúngica

As amostras biológicas devem ser inoculadas num meio de cultura apropriado que assegure o crescimento fúngico e iniba o crescimento de alguns contaminantes, nomeadamente bactérias (Songer & Post, 2005).

As culturas são incubadas entre 25°C e 37°C, por períodos diferentes de acordo com o microrganismo envolvido. Há fungos de crescimento rápido, com uma taxa de crescimento inferior a 5 dias, de crescimento intermediário, que crescem entre 6 a 10 dias, e de crescimento lento, de mais de 11 dias (Fisher & Cook, 1998). Na Tabela 6 estão apresentados os fungos mais representativos das diferentes taxas de crescimento.

Tabela 6 – Classificação dos fungos relativamente à taxa de crescimento (adaptado de Fisher & Cook, 1998)

Grupo	Taxa de crescimento	Fungos
Crescimento rápido	Inferior a 5 dias	Saprófitas Fungos oportunistas Leveduras
Crescimento intermédio	Entre 6 a 10 dias	Fungos oportunistas Dermatófitos Fungos subcutâneos
Crescimento lento	Superior a 11 dias	Fungos sistémicos Fungos subcutâneos

O *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) e *Potato Dextrose Agar* (PDA) são dois meios utilizados tradicionalmente para cultura fúngica, e contêm um elevado teor de açúcares e um pH ácido que inibe a multiplicação bacteriana, ao mesmo tempo que promove o crescimento fúngico. Ainda existem outros componentes que podem ser adicionados, tais como antibióticos (como o cloranfenicol, a gentamicina e a penicilina), que aumentam o potencial antibacteriano, ou antifúngicos (como a cicloheximida) que ajudam a inibir alguns fungos saprófitas. O *Dermatophyte Test Medium* (DTM), Mycosel e Mycobiotic Agar são alguns exemplos de meios com cicloheximida. Dado que este antifúngico pode suprimir o crescimento de alguns fungos patogénicos, incluindo *Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus fumigatus*, é sempre recomendado realizar culturas em meio com e sem este composto (Songer & Post, 2005; Miller et al., 2013).

A identificação de fungos filamentosos envolve o exame macro e microscópico da colónia. As características macroscópicas dizem respeito à morfologia da colónia, e incluem a coloração da superfície e reverso da colónia, textura, topografia e período de crescimento da colónia. A observação microscópica permite avaliar os esporos e as estruturas que os formam. Se o fungo não estiver em esporulação, pode ser necessário repicar a colónia para outro meio de cultura que a favoreça, como o PDA ou Lactrimel (Santos, Coelho & Nappi, 2002; Songer & Post, 2005).

Por sua vez, as leveduras são identificadas através da observação da morfologia e caracterização do seu metabolismo. A identificação presuntiva das mesmas pode ser

realizada através da incorporação de compostos cromogénicos no meio de cultura, ou através de galerias de identificação bioquímica (API Candida) (Songer & Post, 2005; Biomérieux, 2018).

4.4. Infecções cutâneas

4.4.1. Dermatofitoses

A dermatofitose, que também pode ser denominada de dermatofitíase ou, vulgarmente, tinha, corresponde a uma micose cutânea provocada por fungos dermatófitos. As infeções cutâneas resultantes da infeção por fungos não dermatófitos denominam-se dermatomicoses (Fisher & Cook, 1998). A dermatofitose constitui a micose mais frequente em coelhos e cobaias (Donnelly, Rush & Lackner, 2000).

Os fungos dermatófitos invadem tecidos queratinizados, ou seja, pele, pelo e, em menor grau, unhas. Apesar da colonização fúngica ser normalmente restringida à camada córnea da epiderme, a presença do fungo e respetivos metabolitos induz uma resposta inflamatória e alérgica no hospedeiro. No entanto, a gravidade da infeção depende da espécie fúngica envolvida (Donnelly et al., 2000).

Estes fungos são de distribuição universal. As espécies de dermatófitos distribuem-se três géneros, *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*. Podem ser categorizadas e agrupadas consoante o seu habitat e preferência de hospedeiro, podendo classificar-se como zoofílicos, antropofílicos e geofílicos (Tabela 7) (Donnelly et al., 2000; Songer & Post, 2005). Os agentes zoofílicos afetam principalmente os animais, causando uma doença moderada ou assintomática em animais exóticos. No entanto, podem afetar humanos, constituindo uma zoonose caracterizada por uma forte reação cutânea (Donnelly et al., 2000).

Por sua vez, os agentes antropofílicos são praticamente exclusivos dos humanos, raramente afetando os animais (Songer & Post, 2015).

Por último, os agentes geofílicos são agentes existentes no solo que utilizam a queratina da matéria orgânica em decomposição, e raramente infetam animais e humanos. No entanto, o contacto com solo contaminado pode promover o desenvolvimento de infeção, provocando lesões inflamatórias graves (Donnelly et al., 2000).

Tabela 7 – Classificação dos dermatófitos isolados de animais domésticos baseada na preferência de hospedeiro e habitat natural (Songer & Post, 2005)

Geofílico	Antropofílico	Zoofílico
<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>	<i>Microsporum canis</i>
<i>M. nanum</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>M. equinum</i>
<i>M. persicolor</i>	<i>T. schoenleinii</i>	<i>M. gallinae</i>
<i>M. vanbreuseghemii</i>	<i>T. tonsurans</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
<i>M. cookei</i>	<i>T. violaceum</i>	<i>T. simii</i>
	<i>Microsporum audouinii</i>	<i>T. verrucosum</i>
	<i>M. megninii</i>	

A transmissão pode ocorrer através de contacto direto com o agente ou através de fomites (geralmente materiais contaminados com pelos ou detritos cutâneos de animais infetados). A tricotomia, a pele molhada e macerada, a utilização inadequada de champôs, a presença de ectoparasitas ou traumatismo podem representar uma porta de entrada ao agente (Donnelly et al., 2000).

A infeção não ocorre normalmente em pele intacta e saudável e os esporos que contactam com esse tipo de pele podem ser facilmente removidos através da limpeza do animal. Deste modo, o desenvolvimento de infeção depende de fatores que influenciam primeiramente a suscetibilidade ou resistência do hospedeiro. Os animais jovens, idosos e imunossuprimidos estão mais suscetíveis (Donnelly et al., 2000). A manifestação clínica das dermatofitoses é decorrente da sua multiplicação na camada córnea e da reação do hospedeiro à sua presença (Santos et al., 2002).

Frequentemente, a dermatofitose em coelhos e cobaias provoca apenas sinais moderados. No entanto, estes são agentes infecciosos de alguma relevância na saúde animal e humana dado o potencial de transmissão interespecífica, incluindo a humanos. Nestes a dermatofitose pode exigir tratamento prolongado, verificando-se que a persistência de esporos no ambiente dificulta a sua erradicação (Rhodes & Werner, 2011).

4.4.1.1. Dermatofitoses no coelho

A dermatofitose em coelho é mais frequentemente associada à espécie *Trichophyton mentagrophytes*, apesar de também se encontrar descrita a associação a *Microsporum* spp., principalmente em coelhos domésticos. É classificada como zoonose visto ser uma espécie de dermatófito que pode afetar o ser humano, verificando-se também que estes animais podem adquirir a infeção devido a transmissão a partir do Homem ou de outros animais (Donnelly et al., 2000).

Considera-se que os coelhos podem ser portadores assintomáticos deste microrganismo (Donnelly et al., 2000; Vangeel, Pasmans, Vanrobaeys, Herdt & Haesebrouck, 2000), e desenvolver lesões devido ao stress, má-nutrição, sobrepopulação, doença concomitante ou gestação (Hess & Tater, 2012; Turner et al., 2018b).

Os coelhos jovens são mais frequentemente afetados devido ao seu sistema imunitário incompletamente desenvolvido e aos baixos níveis de ácidos gordos fungistáticos na secreção sebácea (Hess & Tater, 2012).

A infeção afeta mais frequentemente a cabeça, extremidades e base das unhas, mas pode afetar qualquer parte do corpo (Hillyer, 1994; Turner et al., 2018b). O envolvimento da pele pode ser localizado, multifocal ou generalizado. A infeção manifesta-se através de lesões de alopecia circular, irregular ou difusa com descamação e eritema das margens, podendo desencadear formação de crostas (Figura 16). Pode estar presente ou não algum grau de prurido (Hess & Tater, 2012).

Figura 16 – Lesões de dermatofitose em coelhos: a) Lesão no pavilhão auricular (Hoppmann & Barron, 2007a);
b) Lesão no chanfro (Dey, Rahman, Rimu, Dutta & Sayeed, 2016)



O prurido, se presente, é normalmente mínimo, mas pode ser intenso. Os pelos remanescentes podem aparecer curtos ou partidos (Hess & Tater, 2012).

4.4.1.2. Dermatofitoses no cobaio

O fungo dermatófito mais frequentemente isolado de cobaio pertence à espécie *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes* (Donnelly et al., 2000), apesar de já terem sido descritos casos promovidos por *M. canis*, *M. gypsum*, *M. equinum* e *M. audouinii* (Kraemer, Mueller, Werckenthin, Straubinger & Hein, 2012b).

Tal como o coelho, o cobaio está também referenciado como possível portador assintomático de dermatófitos (Lopez-Martinez, Mier & Quirarte, 1984; Vangeel et al., 2000), sendo no entanto mais suscetível a este tipo de infeções do que os coelhos (Donnelly et al., 2000).

A apresentação clínica é semelhante à dos coelhos (Figura 17), variando a localização das lesões, que nesta espécie ocorrem mais frequentemente na cabeça, extremidades e tórax (Turner et al., 2018a).

Figura 17 – Lesão de dermatofitose no cobaio (Bio Agens Research and Development, n.d.)



4.4.1.3. Diagnóstico das dermatofitoses

4.4.1.3.1. Diagnósticos diferenciais

Dados os sinais clínicos associados a dermatofitoses, a lista de diagnósticos diferenciais inclui outras afeções que causam alopecia, eritema, formação de crostas e descamação e, menos frequentemente, prurido (Hoppmann & Barron, 2007b).

i) Alopécia sem lesões associadas

Estas causas de alopecia incluem a existência de áreas fisiológicas desprovidas de pelo, já referidas anteriormente, o arrancamento de pelos pelo próprio ou por outros animais (designado por *barbering* pelos autores de língua inglesa) e alterações hormonais (Harvey, 1995).

O *barbering* pode ter várias causas. É um comportamento que resulta muito frequentemente de problemas de manejo, podendo ser auto-induzido ou inflingido por outros animais (Hoppmann & Barron, 2007a).

Em coelhos, ocorre mais frequentemente entre animais, podendo também ser auto-inflingido. Este comportamento pode estar associado a stress ambiental (como por exemplo sobrepovoamento), ação de demonstração de dominância, *overgrooming* idiopático ou disponibilização de dietas pobres em fibras. Pode ocorrer também auto-mutilação após injeção intra-muscular ou outros estados de dor localizada (Hoppmann & Barron, 2007a; Hess & Tater, 2012). Pode ainda ocorrer em coelhos fêmea gestantes que, quando se aproxima a altura do parto, arrancam pelos da barbeta para fazer o ninho e expor os mamilos. Este arrancamento também ocorre no caso de desenvolverem uma pseudo gestação (Harvey, 1995; Meredith, 2006).

Em cobaias, o *barbering* auto-induzido pode ocorrer quando um animal vive sozinho, e ser o reflexo de tédio ou deficiências nutricionais. Se ocorrer entre animais da mesma espécie, é geralmente induzido pelo animal dominante, e pode ou não refletir um sobrepovoamento do espaço. Nestes casos, o animal dominante deve ser separado e deve ser revista a disponibilização de espaço disponível por animal, bem como a disponibilidade de comedouros, bebedouros e locais de repouso em número suficiente e devidamente localizados para todos os animais coabitantes (Hawkins & Bishop, 2012; Johnson-Delaney, 2014).

As áreas afetadas manifestam-se como áreas de alopecia, apresentando eventualmente, algum grau de eritema e abrasão, apresentando diferenças se o comportamento for ou não auto-induzido. Se auto-inflingido, a área mais afetada é o flanco, especialmente em cobaias. Se for inflingido por outros animais, as áreas afetadas são a área ventral do pescoço, membros posteriores ou tórax (Hoppmann & Barron, 2007b). O diagnóstico depende do testemunho da mutilação e da avaliação do manejo dos animais. Além disso, dado que os pelos não são completamente arrancados uma vez que são cortados pelos dentes dos animais, podem ser visualizados no tricograma pelos partidos (Hawkins & Bishop, 2012).

As alterações hormonais afetam maioritariamente cobaias e têm, normalmente, origem em quistos ováricos foliculares que promovem alopecia normalmente bilateral, simétrica e não pruriginosa, ou em alterações hormonais no fim do período de gestação ou durante a lactação (Hawkins & Bishop, 2012).

ii) Alopecia associada a lesões

Os coelhos que apresentam lesões ou dor podem arrancar pelo ou morder a própria barbeta se forem incapazes de contactar com a zona afetada devido a obesidade ou problemas osteoarticulares, podendo originar zonas de alopecia associada a inflamação (Harvey, 1995). Por sua vez, a pododermatite é comum em coelho e cobaio e é normalmente resultante de manejo inadequado, incluindo a presença de grades no solo, substrato húmido, substrato inadequado, obesidade e sedentarismo (Hawkins & Bishop, 2012; Campbell-Ward & Meredith, 2014). A deficiência em vitamina C no cobaio é também um fator predisponente (Miller et al., 2013). Na fase inicial do processo, a pododermatite apresenta-se como uma área de alopecia e eritema, podendo ser confundida com dermatofitose. Depois progride para erosões e ulcerações que podem infectar e resultar em osteomielite, podendo estar presente algum grau de prurido (Hoppmann & Barron, 2007b). Distingue-se da dermatofitose através da avaliação do manejo dos animais e realização de citologia a partir das lesões, se presentes (Hoppmann & Barron, 2007b).

Por fim, a alopecia pode estar relacionada com causas parasitárias que incluem infeção por ácaros, piolhos ou pulgas (Tabela 8). As pulgas que afetam mais frequentemente os coelhos e cobaios de companhia são iguais às do cão e gato, pertencendo às espécies *Ctenocephalides felis* e *Ctenocephalides canis*, pelo que animais que convivam com estas espécies estão em maior risco. O ácaro do pelo dos coelhos, *Cheyletiella parasitivorax*, é zoonótico e também pode afetar cães e gatos, já o ácaro do pelo do cobaio, *Chirodiscoides caviae*, é menos frequente e frequentemente subclínico. O ácaro das orelhas, *Psoroptes cuniculi*, só aparece no coelho. Por sua vez, o cobaio é maioritariamente afetado por ácaros da pele, *Trixacarus caviae*, também zoonótico. A infestação por piolhos é rara em ambas as espécies (Hawkins & Bishop, 2012; Miller et al., 2013).

Tabela 8 – Lesões causadas pelos principais ectoparasitas do coelho e do cobaio e respetiva localização (Harvey, 1995; Hawkins & Bishop, 2012; Miller et al., 2013)

Coelho		Cobaio	
Lesões	Localização das lesões	Lesões	Localização das lesões
Pulga	Pelo baço, facilmente destacável, prurido intenso, alopecia assimétrica, eritema e descamação	Face, orelhas e base da cauda	Pelo baço, alopecia e prurido
Piolho	Alopecia ou hipotricose, pápulas eritematosas e prurido	Não identificada	Sinais normalmente pouco evidentes, mas em infestações graves pode provocar alopecia, lesões crostosas e mau estado do pelo
Ácaros do pelo	Dermatite seca, escamosa e pruriginosa. Alopecia assimétrica ou pelos partidos. Pelos das margens das lesões destacam-se facilmente	Pescoço dorsal, tronco, extremidades dos membros posteriores e abdómen	Alopecia e prurido em infestações graves
Ácaros da orelha	Formação de crostas e prurido	Canal auditivo externo	
Ácaros da pele			Em casos moderados é aparente uma camada de pelo mais fina ou mesmo alopecia e descamação cutânea. Em casos mais graves, o prurido pode ser muito intenso e ser a causa de escoriações que podem posteriormente ser infectadas por bactérias ou fungos
			Ao longo do dorso, lateralmente e no pescoço. Em animais debilitados, a infestação por este ácaro pode disseminar-se pelo corpo

4.4.1.3.2. Exame com lâmpada de Wood

A lâmpada de Wood é uma fonte de luz ultravioleta que utiliza um comprimento de onda de 320 a 400 nm (Asawanonda & Taylor, 1999). Um resultado positivo para dermatófitos caracteriza-se pela observação de uma fluorescência de coloração amarelo-esverdeada na haste ou folículo do pelo afetado, que se deve à presença de metabolitos de triptofano produzidos pelo fungo. Por sua vez, escamas, crostas e culturas fúngicas laboratoriais não exibem fluorescência. Assim sendo, se houver crostas na lesão suspeita estas devem ser retiradas para permitir uma melhor observação através da lâmpada de Wood (Meredith, 2006; Miller et al., 2013).

Nem todas as espécies de dermatófitos produzem estes metabolitos. Apenas cerca de 50 a 60% das infecções por *M. canis* fluorescem, sendo que algumas outras espécies de dermatófitos, como *M. audouini*, *M. distortum*, *M. incurvata* e *Trichophyton schoenleinii*, podem também mostrar alguma produção de metabolitos fluorescentes (Meredith, 2006; Rhodes & Werner, 2011; Miller et al., 2013).

É importante que a luz seja previamente aquecida durante um período mínimo de 5 minutos, de modo a conseguir ser atingido o comprimento de onda adequado; que o animal esteja numa divisão completamente escura; e que os olhos do observador se acomodem à escuridão para melhor visualização (Miller et al., 2013). As lesões suspeitas devem ser expostas à luz por 5 minutos. Se a região apresentar fluorescência, os pelos aparentemente afetados devem ser arrancados e a infecção deve ser confirmada através de cultura (Rhodes & Werner, 2011). É um teste fácil, rápido, seguro e sem custos, mas apresenta muitos resultados falsos-negativos, especialmente nas espécies exóticas devido às espécies fúngicas envolvidas, e falsos-positivos, que normalmente apresentam uma fluorescência de coloração diferente, tal como azul, em oposição ao amarelo-esverdeado típico. Deste modo, este teste tem uma baixa sensibilidade e especificidade nestas espécies. No entanto, visto ser um exame inócuo e sem custos, deve ser realizado (Miller et al., 2013). As causas responsáveis por resultados falsos-negativos e falsos-positivos encontram-se esquematizadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Causas responsáveis por falsos-negativos e falsos-positivos após exame Lâmpada de Wood
(Asawanonda & Taylor, 1999; Meredith, 2006; Vaden et al., 2009)

Falsos-negativos	Falsos-positivos
Em coelhos e cobaias o dermatófito mais frequente é <i>T. mentagrophytes</i> , logo a probabilidade de ocorrer fluorescência nestes animais é baixa, no entanto podem exibir fluorescência caso sejam portadores de dermatófitos de outra espécie	Poeiras
Presença de crostas	Bactérias como <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Quando o pelo é muito fino, o diâmetro da sua haste é tão pequeno que pode ser inferior à resolução do olho humano	Secreção sebácea
Desinfecção com iodo	Sabão
	Fibras de tapetes

4.4.1.3.3. Exames laboratoriais

A seleção do material a analisar é um fator crítico para o sucesso da análise laboratorial. Como já referido anteriormente, a lâmpada de Wood pode ser um auxiliar para a seleção dos pelos afetados. Devem ser recolhidos pelos que fluoresçam ou pelos ou escamas da periferia da lesão. Deve evitar-se recolher material de áreas lesionais mais antigas, como o centro das lesões, uma vez que nestes locais o fungo encontra-se em menor quantidade ou com menor viabilidade. Estes pelos devem ser arrancados com uma pinça hemostática ou outro tipo de instrumento que seja o menos traumático possível, para não partir o pelo e separá-lo da raiz pois os fungos dermatófitos encontram-se muitas vezes próximos a esta região. Após a recolha, caso não seja possível o seu processamento imediato, o material deve ser guardado em ambiente seco, escuro e preferencialmente estéril (Fisher & Cook, 1998; Santos et al., 2002).

i) Exame microscópico direto

Este não é um teste sensível para a deteção de dermatófitos, revelando a sua presença em apenas 40% a 70% dos casos, e pode ser algo moroso; no entanto, uma vez que pode permitir detetar a presença da infeção fúngica mais rapidamente, este exame deve ser sempre realizado (Fisher & Cook, 1998; Rhodes & Werner, 2011).

O material deve ser colocado numa lâmina de microscópio com Hidróxido de Potássio (KOH) a 10%, que tem como função a clarificação do material biológico (Fisher & Cook, 1998).

Neste exame procuramos observar a haste do pelo infiltrada com hifas e artrosporos (Santos et al., 2002; Hnilica & Patterson, 2017). Estas estruturas fúngicas podem estar localizadas à superfície da haste do pelo, denominando-se infeção por ectotrix, ou no interior do pelo, denominando-se infeção por endotrix (Miller et al., 2013). É importante ainda referir que neste exame não é possível observar os macroconídios típicos destas espécies fúngicas (Rhodes & Werner, 2011). As espécies mais associadas a coelhos e cobaias, *T. mentagrophytes* e *M. canis*, promovem infeções ectotrix (Santos et al., 2002).

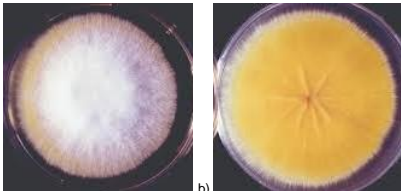
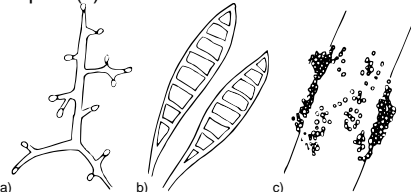
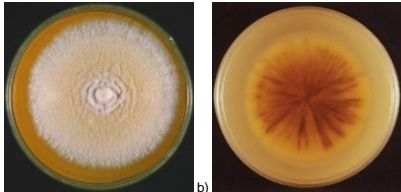
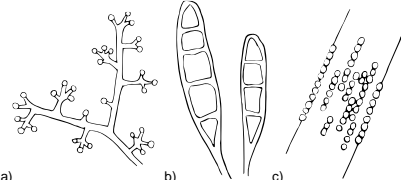
ii) Cultura fúngica

Este é o teste de eleição para a deteção e identificação de dermatófitos (Rhodes & Werner, 2011; Miller et al., 2013); no entanto, a identificação nem sempre é fácil, sendo por vezes necessário recorrer a métodos moleculares. Este teste também pode originar resultados falsos-negativos e falsos-positivos, sendo possível a cultura ser negativa mesmo quando o exame microscópico da amostra foi positivo (Miller et al., 2013; Turner et al., 2018b).

Os meios de cultura tradicionalmente utilizados para a deteção de fungos são o SDA e o DTM. O DTM é semelhante ao SDA mas é mais seletivo, pois contém cicloheximida, gentamicina e clortetraciclina que atuam como agentes antibacterianos e antifúngicos saprófitas, e um indicador de pH, o vermelho fenol.

A maioria dos fungos não dermatófitos, incluindo *Blastomyces dermatitidis*, *Sporothrix schenckii*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Pseudallescheria boydii* e alguns *Aspergillus* podem também produzir uma alteração na cor do meio; no entanto, esse fenômeno ocorre apenas alguns dias após o crescimento. Daqui advém a necessidade de se visualizar as culturas diariamente, principalmente nos primeiros 15 dias, evitando resultados falsos-positivos resultantes apenas da observação da alteração da cor do meio. A correta interpretação do resultado da cultura em DTM exige o reconhecimento da mudança da cor do meio concomitantemente com crescimento de micélio visível e a identificação microscópica (Fisher & Cook, 1998; Miller et al., 2013). Na Tabela 10 encontram-se as características macroscópicas e microscópicas dos dermatófitos mais comuns em coelho e cobaia, que produzem colônias entre 6 a 10 dias (Vaden et al., 2009).

Tabela 10 – Morfologia macro e microscópica de *M. canis* e *T. mentagrophytes*
(Fisher & Cook, 1998; Vaden et al., 2009; Miller et al., 2013)

	Morfologia macroscópica	Morfologia microscópica (5)
<i>Microsporum canis</i>	<p>a) Superfície: Coloração branca a alaranjada, textura algodonosa com margens amareladas (1)</p> <p>b) Reverso: Coloração amarela alaranjada, mais tarde pode tornar-se escuro (2-4 semanas) (2)</p> 	<p>Hifas septadas</p> <p>Microconídios pequenos, unicelulares, não característicos e raros (a)</p> <p>Macroconídios em forma de fuso com de 5 a 8 divisões (b) abundantes</p> <p>Na observação do pelo ao microscópio observa-se infecção por ectotrix com microconídios desorganizados à superfície do pelo (c)</p> 
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<p>a) Superfície: Coloração branca a bege que evolui para castanha amarelada ou vermelhada (3)</p> <p>b) Reverso: Coloração amarela ou rosa avermelhado (4)</p> 	<p>Hifas septadas</p> <p>Microconídios globosos, abundantes, que podem surgir isoladamente a partir das hifas ou formar cachos (a)</p> <p>Macroconídios em forma de charuto com 2 a 5 divisões (b), menos abundantes que os macroconídios de <i>M. canis</i></p> <p>Na observação do pelo ao microscópio observa-se infecção por ectotrix com microconídios organizados em cadeias à superfície do pelo (c)</p> 

(1, 2 – University of Adelaide, 2016a; 3 – Public Health Image Library, 2012b;
4 – Public Health Image Library, 2012a; 5 – Imagens adaptadas de Miller et al., 2013)

Devido à presença de cicloheximida no DTM, os fungos sensíveis a esta substância não crescem neste meio, tais como observado para algumas espécies de *Candida* e de *Aspergillus* e muitos membros do filo Zygomycota. O DTM pode suprimir o desenvolvimento de conídios, mascarar a pigmentação das colónias e inibir o crescimento de alguns fungos patogénicos. Assim sendo, é aconselhável realizar as culturas paralelamente em DTM e em SDA, sendo que muitas vezes a identificação é mais fácil a partir da observação das características das colónias em SDA (Miller et al., 2013).

iii) Testes serológicos

Encontram-se disponíveis ensaios ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) para a deteção de IgG em cães e gatos infetados com *M. canis* e coelhos infetados com *T. mentagrophytes* (Zrimšek & Drobnič-Košorok, 2002; Peano, Rambozzi & Gilo, 2005). O teste ELISA para a deteção de IgG em cães infetados com *M. canis* mostrou ter uma sensibilidade de 83,3% e especificidade de 95,2% (Peano et al., 2005). Por outro lado, o teste ELISA para deteção de IgG em gatos infetados com *M. canis*, demonstrou uma sensibilidade de 75,0 % e especificidade de 91,7% (Zrimšek & Drobnič-Košorok, 2002). Por último, o teste ELISA para deteção de IgG em coelhos infetados com *T. mentagrophytes* demonstrou uma sensibilidade de 96,0% e especificidade de 94,1% (Zrimšek & Drobnič-Košorok, 2002).

iv) Diagnóstico molecular

Dadas as semelhanças a nível morfológico de algumas espécies de dermatófitos bem como a variabilidade e polimorfismo das mesmas, o diagnóstico e identificação da espécie responsável pela infeção através de cultura pode ser moroso e requer um grau de conhecimento elevado. Deste modo, o diagnóstico molecular permite uma maior rapidez no diagnóstico assim como um maior conhecimento da epidemiologia das infeções (Kanbe, 2008).

As principais técnicas que permitem o diagnóstico molecular são a identificação baseada em Ácido Desoxirribonucleico (*DeoxyriboNucleic Acid* – DNA) mitocondrial, Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction* – PCR) e Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphism* – RFLP) (Kanbe, 2008). Estas técnicas não serão descritas pormenorizadamente pois não têm relevância para o trabalho relativo a esta dissertação.

4.4.1.3.4. Histopatologia

A histopatologia é outra técnica que permite averiguar se realmente existe invasão dos tecidos pelo agente fúngico (Kraemer, Hein, Heusinger & Mueller, 2012a).

Histologicamente pode ser observada hiperqueratose e acantose folicular e dermal associada a uma dermatite neutrofílica moderada a piogranulomatosa perivascular e intraepitelial. Pode

ainda verificar-se a presença de hifas septadas e artroconídios a invadir o estrato córneo e/ou a haste do pelo, que se visualizam mais facilmente através da coloração Ácido Periódico-Shiff (*Periodic Acid-Shiff* – PAS) ou da coloração de Metenamina de Prata de Grocott (*Grocott's Methenamine Silver* – GMS). Pode ser também observada infecção bacteriana secundária se houver colonização de abrasões ou ulcerações cutânea existentes por estes agentes (Turner et al., 2018b).

4.4.1.4. Tratamento e prognóstico

Está descrito que em alguns animais pode ocorrer remissão espontânea da doença (Harcourt-Brown, 2002; Hess & Tater, 2012), que em cobaias apenas foi reportada em aproximadamente 7% dos casos (Kaemer et al., 2012a). No entanto, o estabelecimento da terapêutica acelera a cura e reduz a contaminação ambiental (Rhodes & Werner, 2011). Dado o potencial de transmissão desta afeição tanto para outros animais como para humanos, a fácil propagação de esporos, a resistência no meio ambiente e a baixa frequência de cura espontânea, é sugerido que todos os animais afetados sejam tratados (Turner et al., 2018b). Contudo, é importante informar os tutores de que em situações em que existam vários animais pode haver recorrência de infecções que se podem tornar persistentes e cujo tratamento pode ser frustrante e dispendioso (Rhodes & Werner, 2011).

O prognóstico da doença é bom, excepto em locais sobrepovoados ou em que a doença é endémica. Os animais com doenças imunossupressoras têm pior prognóstico (Rhodes & Werner, 2011).

4.4.1.4.1. Tratamento do animal

Atualmente encontram-se disponíveis vários medicamentos antifúngicos para o tratamento da dermatofitose. A terapia pode ser tópica, sistémica ou uma combinação de ambas, dependendo da localização, extensão, gravidade das lesões e da espécie de dermatófitos envolvida (Vasallo, Sarduy & Vazques, 2013).

Existem alguns fatores a ter em consideração no estabelecimento da terapia: se a lesão é focal ou localizada, deve ser aplicada medicação tópica; se há múltiplas lesões ou infecção generalizada deve ser administrada medicação sistémica em conjunto com medicação tópica mais generalizado, como banhos ou imersões. O pequeno tamanho destes animais predispõe-nos à hipotermia depois de serem lavados ou imersos, sendo portanto necessário garantir que o animal permanece seco após o tratamento (Hoppmann & Barron, 2007b; Hess & Tater, 2012). No entanto, Hess e Tater (2012) consideram que a administração de medicação tópica localizada para dermatofitose não é recomendada pois os fungos dermatófitos podem estar presentes em áreas não lesionais.

Existe alguma controvérsia se deve ser ou não realizada a tricotomia à volta das lesões. Por um lado, a tricotomia permite uma melhor penetração do medicamento na pele; por outro,

pode induzir abrasões a partir das quais a infecção pode alastrar. Assim sendo, a realização da tricotomia deve ser feita de modo cuidadoso e os pelos devem ser descartados para controlar a propagação da infecção (Hess & Tater, 2012). É importante relembrar novamente que o coelho tem uma pele fina, propensa a lacerações (Miller et al., 2013).

Apesar da duração dos tratamentos preconizados (Tabela 11), considera-se que o tratamento sistêmico deve ser mantido até existirem duas culturas fúngicas negativas, realizadas com um intervalo de um mês (Hillyer, 1994; Donnelly et al., 2000; Jenkins, 2001). A maioria dos tratamentos acaba por durar 3 a 4 meses (Harcourt-Brown, 2002). Os tratamentos convencionais para a dermatofitose em coelho e cobaio estão descritos na Tabela 11. Se os animais estão alojados em grupo, todos devem fazer tratamento (Meredith, 2006; Scarff, 2008).

Tabela 11 – Tratamentos mais frequentes para a dermatofitose em coelho e cobaio

	Coelho		Cobaio
Tópico	Clotrimazol	Aplicar sobre lesão (Fisher & Graham, 2017)	Aplicar sobre lesão (Mayer & Mans, 2017)
	Calda sulfocálcica	Mergulhar numa solução diluída a 1:32 q3-4 dias (Hess & Tater, 2012) ou q5-7 dias x 4semanas. Usar com precaução (Fisher & Graham, 2017)	Mergulhar numa solução diluída a 1:40 q 7 dias x 4 tratamentos (Mayer & Mans, 2017)
	Enilconazol	Mergulhar numa solução diluída a 0,2% q3-4 dias (Hess & Tater, 2012).	Mergulhar numa solução diluída a 1:50 q7 dias ou aplicar a solução na mesma diluição apenas na lesão q 3-4 dias (Mayer & Mans, 2017)
	Miconazol	Aplicar sobre lesão q24h x 14-28 dias (Fisher & Graham, 2017)	
	Miconazol + clorexidina	Banhar uma vez por dia (Fisher & Graham, 2017)	
Sistêmico	Griseofluvina	12,5-25 mg/kg PO q12-24h x 30-45 dias. Diminuir a dose em 50% caso seja utilizada a forma ultra-micronizada (tem melhor absorção). Em doses altas pode causar supressão medular e panleucopénia (Fisher & Graham, 2017). Os tutores devem manipular o fármaco com luvas (Hess & Tater, 2012)	15-50 mg/kg PO q24 h x 14-28 dias. Não usar em animais gestantes, pode causar diarreia, leucopénia e anorexia (Mayer & Mans, 2017)
	Itraconazol	5-10 mg/kg PO q24h x 30 dias (Fisher & Graham, 2017)	5mg/kg PO q24 horas. Fazer tratamento pulsátil – 7 dias de tratamento alternados com 7 dias sem tratamento até obter cultura negativa. Nos cobaios é menos eficaz do que a terbinafina (Mayer & Mans, 2017)
	Quetoconazol	10-40 mg/kg PO q 24h x 14 dias (Fisher & Graham, 2017)	
	Terbinafina	10mg/kg PO q24h é mais eficaz quando utilizado em terapia combinada, pouco utilizado individualmente (Fisher & Graham, 2017)	20 mg/kg PO q24h 4-6semanas (Mayer & Mans, 2017)

4.4.1.4.2. Tratamento ambiental

Como o material infeccioso pode permanece viável no ambiente por vários anos, a limpeza e desinfecção ambiental e de fomites é uma etapa muito importante no tratamento destes animais, especialmente em casos de dermatofitose recorrente (Rhodes & Werner, 2011; Turner et al., 2018b).

Os artrosporos dos dermatófitos que são libertados a partir de pelos partidos ou libertados pelo animal têm grande resistência no ambiente. Deste modo é muito importante a aspiração dos pelos e limpeza das superfícies com lixívia (hipoclorito de sódio). As concentrações de

lixívia necessárias variam de acordo com vários estudos (Rhodes & Werner, 2011), mas uma concentração de 0,5-5% parece ser eficaz (Martino & Luzi, 2004)

Todos os materiais com que o animal infetado teve contacto (como roupas, tapetes e jaula) devem ser lavados com lixívia ou, caso não seja possível, descartados (Rhodes & Werner, 2011). O mais indicado para limpeza de tapetes são vaporizações com formaldeído ou enilconazol, pois a limpeza a vapor não é suficiente para matar os esporos; no entanto, o formaldeído é considerado carcinogénico pelo que é necessária alguma precaução (Hess & Tater, 2012; Miller et al., 2013).

4.4.1.5. Prevenção

Existem algumas medidas que auxiliam na prevenção da disseminação destes microrganismos. Em primeiro lugar, visto ser uma doença zoonótica, é muito importante a correta higienização das mãos após a manipulação dos animais, especialmente por indivíduos com um sistema imunitário mais frágil, como crianças, idosos, grávidas ou com alguma doença imunossupressora (Turner et al., 2018b).

De modo a prevenir o contágio a partir de um animal recém-adquirido, deve-se ponderar a realização de um período de quarentena e de culturas fúngicas a partir dos animais recém-chegados, com vista a impedir o contágio por animais assintomáticos (Martino & Luzi, 2004; Rhodes & Werner, 2011). O período de quarentena é frequentemente aplicado em explorações cunícolas (Martino & Luzi, 2004). Por vezes, os animais são adquiridos muito jovens através de criadores ou lojas de animais, estando reportada uma maior incidência da doença nestes animais (Vangeel et al., 2000; Kraemer et al., 2012a). Também já foram descritas infeções a partir de animais assintomáticos recentemente comprados em lojas de animais (Halsby, Walsh, Campbell, Hewitt & Morgan, 2014).

É importante referir mais uma vez que a identificação da espécie fúngica envolvida na infeção ajuda na determinação da origem da mesma (Songer & Post, 2005). Se a infeção for provocada por *M. canis*, dado que não é muito frequente em coelhos (Kraemer et al., 2012a), é de suspeitar que a sua origem seja outro animal com que o coelho ou cobaio conviva, tal como um cão ou um gato. Nesta situação, estes animais também devem fazer tratamento. Se por sua vez for isolada uma espécie geofílica, presume-se que o animal esteve em contacto com solo contaminado, havendo necessidade de evitar este contacto (Rhodes & Werner, 2011).

Em alguns países existem vacinas disponíveis para utilização em cão e gato para a prevenção de infeção por *M. canis*; no entanto, não existem estudos suficientes de avaliação de eficácia (Lund & Deboer, 2008). Rhodes e Werner (2011) afirmam que a vacina é apenas útil para diminuição dos sinais clínicos, promovendo o desenvolvimento de estados portadores assintomáticos.

4.4.2. Dermatomicoses

Enquanto as dermatofitoses correspondem a infecções causadas por fungos dermatófitos, as dermatomicoses referem-se a infecções cutâneas produzidas por fungos não dermatófitos, como algumas leveduras ou fungos saprófitas (Songer & Post, 2005). No entanto, este tipo de micoses são raras em coelho e cobaio (White, Guzman, Paul-Murphy & Hawkins, 2016; Turner et al., 2018a).

4.4.2.1. Aspergilose

Já foi reportada aspergilose da pele e dos pulmões numa ninhada de coelhos de 4 semanas de idade. As lesões apresentavam-se sob a forma de pápulas com 1 a 2 mm, disseminadas por todo o corpo, que histologicamente correspondiam a lesões quísticas distendidas com material necrótico e hifas septadas. A partir destas lesões foi possível isolar em cultura fungos pertencentes à espécie *Aspergillus* sp.. Posteriormente concluiu-se que os animais afetados estavam a ser criados em contacto com material contaminado, e a sua eliminação foi suficiente para prevenir novos casos (Scott, Miller & Griffin, 2001).

4.4.2.2. Malasseziose

Em coelho, a levedura *Malassezia cuniculi* foi detetada num estudo de Cabañes, Vega e Castellá (2011) no canal auditivo e nas zonas correspondentes às glândulas sebáceas (mento, zona inguinal e anal) em animais assintomáticos. No entanto, *Malassezia* sp. já foi isolada a partir de um coelho com sinais dermatológicos. Este animal apresentava três áreas de alopecia (um foco na zona cervical ventral, com edema e eritema associados, e outros dois focos na zona costo-abdominal esquerda e direita, com ligeiro eritema nas margens da lesão) e descamação da pele, sendo que os pelos perto da lesão destacavam-se facilmente. O animal apresentava má oclusão dentária, sobrecrecimento dos incisivos e sialorreia associada a humidade constante na área cervical ventral (Quevedo, Lescano & Fernández, 2013). Nos Estados Unidos, foi também reportado um surto de *Malassezia* sp. associado a sarna sarcóptica, tendo afetado 20 dos 500 coelhos numa exploração (Radi, 2004). Os coelhos estavam fracos e letárgicos, com múltiplas lesões ao redor dos olhos e nas orelhas, lábios, nariz, pescoço, abdómen, extremidades posteriores e zona genital externa caracterizadas por alopecia e descamação. A grave infestação por sarna sarcóptica pareceu ser um fator predisponente para a instalação da infeção por *Malassezia* sp. (Miller et al., 2013). Os cobaios são utilizados no contexto de experimentação como modelo para avaliação de protocolos à terapêutica de afeções por *Malassezia ovalis* (*Pityrosporum ovale*) em humanos (Miller et al., 2013). Esta levedura é uma das responsáveis pela pitíriase versicolor nos humanos. A sua inoculação no cobaio resulta em lesões eritematosas, edema e formação de crostas (Cutsem, Gerven, Fransen, Schrooten & Janssen, 1990), mas ainda não foi determinada a sua importância no desencadeamento de lesões espontâneas (Turner et al.,

2018b). No entanto, White et al. (2016) reportaram quatro casos de dermatite por *Malassezia* spp., diagnosticada por citologia, três dos quais associados a infecção por *T. caviae*.

4.4.2.3 Candidíase

Os cobaios também já tiveram o seu papel como modelo experimental para a candidíase cutânea humana. As lesões resultantes da infecção experimental por *Candida albicans* consistem em eritema, pústulas e crostas (Scott et al., 2001). White et al. (2003) afirmaram que o fungo leveduriforme *C. albicans* pode estar relacionado com queilite em cobaios; no entanto, não foi ainda determinada a sua importância em cobaios de companhia. Já foram reportados dois casos de queilite por Mignon, Symoens e Losson (2002) causados por *C. albicans* em machos adultos, tendo sido possível isolar este microrganismo a partir de uma lesão labial, tal como a partir da mucosa prepucial, apesar de neste último local não manifestar sinais. Dado que este microrganismo pode estar naturalmente presente no trato genital, foi sugerido que esta infecção foi desencadeada pela atividade de limpeza do animal.

4.4.2.4. Criptococose

Esta doença, causada pelo fungo *Cryptococcus* sp., já foi descrita em cobaios. No estudo realizado por Herck, Den, Hage e Zwart (1988), o animal afetado apresentava uma lesão em placa na região dorsal do nariz, que evoluiu para crosta e ulceração e se alastrou para as narinas. O diagnóstico foi realizado através de histopatologia. Foi aplicado um tratamento sistêmico com griseoflavin, mas o animal foi eutanasiado devido ao alastramento das lesões (Herck et al., 1988).

4.4.2.5. Outras espécies fúngicas

Até à data já foram realizados vários estudos que investigaram a frequência de fungos dermatófitos em coelhos e cobaios, tanto em animais de laboratório como em animais de companhia (Vangeel et al., 2000; Kraemer, 2012b). Já foram também encontradas nestes estudos micológicos do pelo e pele de coelho e cobaio outras espécies fúngicas, sendo que a maioria faz parte do grupo de fungos saprófitas. No capítulo seguinte serão relatadas as espécies fúngicas encontradas neste estudo.

Parte III – Estudo

5. Objetivos do estudo

Os objetivos principais deste estudo incluíram a identificação das espécies fúngicas presentes na pele e no pelo de coelho e cobaia e a avaliação da frequência de fungos dermatófitos nestes animais.

Os objetivos secundários incluíram a avaliação da relação entre os resultados das culturas micológicas e determinados fatores relacionados com os animais e seu manejo, tais como o local de origem, espécie, género, idade, proveniência do animal, existência de doença dentária adquirida, convivência com outros animais, administração de banhos, produtos utilizados durante a higiene, acesso ao exterior, tipo de substrato fornecido, origem do substrato fornecido, tipo de alimento fornecido, tipo de ração fornecida, origem do alimento fornecido e medicação a que estavam sujeitos na altura da colheita da amostra. Também foram considerados como objetivos a comparação entre dois meios de cultura utilizados para cultura de fungos, *Sabouraud Chloramphenicol Agar* (SCA) e *Dermatophyte Test Medium* (DTM), e a avaliação da relação entre os resultados das culturas micológicas e o meio de cultura utilizado. Por fim, procurou-se realizar a comparação entre dois métodos de colheita de amostra – o arrancamento de pelos, que neste caso foi executado com recurso a uma pinça hemostática, e a escovagem do animal, que constitui uma variante do método de Mackenzie, assim como a avaliação da relação entre resultados das culturas micológicas e o método de colheita aplicado.

6. Materiais e métodos

6.1. Critérios de inclusão

Foram incluídos neste estudo todos os coelhos e cobaios que se apresentaram em consulta durante os períodos compreendidos entre 25 de setembro de 2017 a 26 de janeiro de 2018 na clínica Zoològic Veterinaris, em Barcelona, e 5 de fevereiro a 6 de julho, no HEV da FMV-ULisboa e cujos proprietários aprovaram a recolha de amostra para fins académicos. Foram admitidos animais de qualquer idade ou género e quer tivessem ou não sinais dermatológicos.

6.2. Colheita de amostras

Em Barcelona, as amostras foram colhidas através do método mais frequente de colheita de pelos para exame micológico, ou seja, através do arrancamento de pelos da periferia de lesões (caso existentes) e recolha de escamas, utilizando uma pinça hemostática Halsted Mosquito estéril. Quando não existiam lesões, as amostras foram colhidas a partir de várias áreas onde as lesões de dermatofitose são mais frequentes no coelho e no cobaio, tais como na cabeça e ao redor desta e zona lateral do tórax nos cobaios (Turner et al., 2018a; Turner et al., 2018b).

Em Lisboa, as amostras foram colhidas através de dois métodos: arrancamento com uma pinça hemostática Halsted Mosquito estéril, nas mesmas condições explicadas anteriormente, e ainda através de uma variante do método descrito por Mackenzie, que utilizava escovas de dentes para diagnóstico de tinea capitis em crianças (Mackenzie, 1963). Esta variante consiste na passagem de uma escova de dentes nova ou esterilizada pela pelagem inteira do animal trinta vezes ou até ficar com algum conteúdo, com o objetivo de acumular pelos e resíduos cutâneos. Esta variante será referida ao longo desta dissertação como método de Mackenzie.

6.3. Questionário

Em Lisboa foi realizado um questionário aos tutores dos animais com o objetivo da recolha de dados relacionados com a proveniência dos animais, história de doença dentária, convivência com outros animais, hábitos de higiene (se os animais tomam banho e produtos utilizados), acesso ao exterior, substrato da jaula e origem do mesmo, alimento fornecido e origem do mesmo, tipo de ração fornecido, medicação a que estavam sujeitos no momento da colheita convivência com indivíduos de risco (Anexo 3).

6.4. Processamento de amostras

6.4.1. Cultura

6.4.1.1. Meios de cultura

Foram utilizados os meios *Sabouraud Chloramphenicol Agar* (SCA, VWR, 84902.0500) e *Dermatophyte Test Medium* (DTM, Merck, 1.10896.0500) a partir dos meios desidratados das marcas VWR e Merck, respetivamente. O meio SCA é uma variante do meio *Sabouraud Agar* (SA) suplementado com cloranfenicol para redução da contaminação bacteriana presente na amostra, cuja composição se encontra descrita na Tabela 12. Por sua vez, o meio DTM é um meio seletivo indicado para a cultura e isolamento de fungos dermatófitos (Taplin, Zaias, Rebell & Blank, 1969), cuja composição encontra-se apresentada também na Tabela 12.

Tabela 12 – Composição dos meios *Sabouraud Chloramphenicol Agar* e *Dermatophyte Test Medium* e funções dos seus componentes (HiMedia Laboratories; Taplin et al., 1969)

Meio	Ingrediente	g/L	Função
SCA	Peptona de caseína	5,00	Fonte de azoto e aminoácidos
	Peptona de carne	5,00	
	D(+)-Glucose	40,00	Fonte de carbono
	Cloranfenicol	0,50	Inibição de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas
	Agar	15,00	Agente de gelificação
	Água desionizada	1000,00	
DTM	Peptona de soja – decomposição por papaína	10,00	Fonte de azoto e de carbono
	Dextrose	10,00	Fonte de carbono
	Cicloheximida	0,50	Inibição do crescimento de alguns fungos saprófitas
	Vermelho de fenol	0,20	Indicador de pH que deteta a alcalinização do meio por alguns fungos
	Cloranfenicol	0,05	Inibição de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas
	Agar	20,00	Agente de gelificação
	Água desionizada	1000,00	

6.4.1.2. Inoculação dos meios de cultura

A inoculação das amostras foi realizada num ambiente estéril garantido pelo bico de Busen. O material foi inoculado através da ajuda de uma ansa ou de uma pinça, sendo que o material obtido pela técnica de Mackenzie (principalmente pelos) foi retirado da escova de dentes previamente à inoculação. Os instrumentos de sementeira foram devidamente esterilizados à chama e arrefecidos por 15 segundos entre as inoculações (Malloch, 2017), para evitar danificar o material. De seguida, o material foi incorporado no meio de cultura por picada após o que as culturas foram colocadas na estufa a 25-27°C, durante 14 dias para culturas em DTM e 21 dias para as culturas em SCA. A tampa dos frascos foi deixada ligeiramente desenroscada para permitir um ambiente aeróbio durante a incubação.

Na totalidade foram realizadas 338 culturas fúngicas (Tabela 13), das quais 134 respetivas às amostras colhidas na clínica Zoològic Veterinaris, em Barcelona, e 204 respetivas às amostras colhidas no HEV da FVM-ULisboa durante os períodos de estágio respetivos.

Tabela 13 – Número de culturas realizadas de acordo com o método de colheita, o meio de cultura e na totalidade

	SCA	DTM	Total
Pinça	118	118	236
Escova	51	51	102
Total	169	169	338

6.5. Identificação fúngica

As culturas foram observadas diariamente durante os 14 dias (culturas em DTM) e os 21 dias (culturas em SCA) de incubação. Foram registadas todas as alterações verificadas, tais como o dia do aparecimento das colónias, a sua taxa de crescimento e o dia em que se deu a alteração da cor do meio. Após os 14 e 21 dias, foi realizada uma observação e caracterização macroscópica e microscópica das colónias obtidas com vista à identificação das culturas fúngicas.

6.5.1. Condições de crescimento

Para cada colónia obtida foram registados o meio de cultura em que cresceu, a taxa de crescimento do fungo e a temperatura de incubação.

Embora os meios de cultura DTM e SCA se distingam facilmente pela sua coloração, esta informação deve ser registada aquando da identificação da colónia, pois em diferentes meios de cultura os fungos podem exibir aspetos morfológicos distintos.

A taxa de crescimento do fungo refere-se ao período em que este desenvolve até apresentar uma colónia madura passível de ser identificada. Deste modo, os fungos foram classificados em fungos de crescimento rápido, intermédio e lento, como apresentado na **Tabela 6** (pp. 26).

6.5.2. Morfologia macroscópica

A morfologia macroscópica das colónias foi observada diariamente, registando o crescimento de novas colónias, o tamanho das mesmas, a cor da sua superfície e do reverso e a cor do meio de cultura. No entanto, estas características não são suficientes para a identificação das culturas fúngicas, tendo sido sempre realizada a identificação microscópica.

O pigmento, a textura e a topografia das colónias foram as características usadas para descrever a morfologia das colónias fúngicas. O pigmento refere-se à coloração da superfície e do reverso da colónia; a textura depende do comprimento do micélio aéreo, presença de esporos e de conídios, podendo ser definida como glabra, aveludada, leveduriforme, granulosa, pulverulenta ou algodonosa; por fim, a topografia depende do arranjo da colónia,

podendo definir-se como plana, pregueada, rugosa, crateriforme, cerebriforme ou verrugosa (Fisher & Cook, 1998).

6.5.3. Morfologia microscópica

O exame microscópico é o mais importante para a identificação das espécies fúngicas (Fisher & Cook, 1998), permitindo a observação da morfologia das hifas, macroconídios, microconídios e estruturas reprodutivas. Assim sendo, para cada colônia fúngica foi realizada uma preparação microscópica que foi visualizada ao microscópio ótico primeiramente com uma ampliação de 100x e, de seguida, de 400x. Ocasionalmente, foi necessário recorrer à ampliação de 1000x para observação de algumas características particulares das estruturas fúngicas.

6.5.3.1. Preparação microscópica

Para a realização das preparações microscópicas foi colocada uma gota do meio de montagem azul de lactofenol numa lâmina. Este meio é constituído por três componentes: o fenol, cuja função é matar os organismos vivos; o ácido láctico, que preserva as estruturas fúngicas; e o azul de algodão, que cora a quitina presente nas estruturas fúngicas (Leek, 1999). De seguida, utilizando uma agulha de dissecação, foi removida uma pequena porção da colônia perto da margem, incluindo também uma camada muito fina da superfície do agar, uma vez que é importante recolher material jovem em crescimento ativo, ou seja, a partir da margem da colônia onde os esporos são produzidos ativamente. Posteriormente, o pedaço de colônia foi colocado sob o meio de montagem e homogenizado com uma segunda agulha para evitar o aparecimento de blocos opacos ao microscópio que fornecem pouca informação (Malloch, 2017). Por fim, foi colocada uma lamela sobre a preparação para posterior visualização ao microscópio.

6.6. Análise estatística

Para a análise estatística foram utilizados os programas Microsoft Office Excel e o software R.

O Microsoft Office Excel foi utilizado para realizar o cálculo de médias, medianas, frequências absolutas e relativas e para a elaboração de tabelas e gráficos de estatística descritiva.

Por sua vez, o software R foi utilizado para avaliar a variação das variáveis de interesse “presença de fungos dermatófitos”, “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas” relativamente às variáveis referidas na secção “5. Objetivos do estudo” (pp. 41) segundo modelos de regressão (Tabela 14). Os modelos de regressão permitem explicar a variação de uma variável de interesse com base em covariáveis. Desta forma, consegue-se extrair informação acerca do nível de significância de cada variável independente na explicação dessa variação, que é o que se pretende neste estudo. Neste caso, foram

utilizados dois modelos de regressão distintos, uma vez que se observam variáveis de interesse com diferentes estruturas: em primeiro lugar, a variável de interesse “número de espécies fúngicas isoladas”; em segundo lugar, a variável de interesse “presença de fungos dermatófitos”, que toma valor 1 se há presença de fungos dermatófitos e 0 caso contrário e a variável de interesse “positividade na cultura micológica”, que toma valor 1 se há presença de espécies fúngicas e 0 caso contrário. Para o primeiro caso foi utilizado um modelo de regressão linear; para o segundo foi utilizado um modelo de regressão logística (McCullagh & Nelder, 1989; Dobson & Barnett, 2008).

Tabela 14 – Apresentação das variáveis utilizadas nos modelos de regressão

Variáveis dependentes	Variáveis independentes
Presença de fungos dermatófitos	Local
Positividade na cultura micológica	Espécie
Número de espécies fúngicas isoladas	Género
	Idade
	Proveniência
	Doença dentária adquirida
	Contacto com outros animais
	Higiene
	Acesso ao exterior
	Substrato da jaula
	Alimento
	Medicação
	Meio de cultura
	Método de colheita

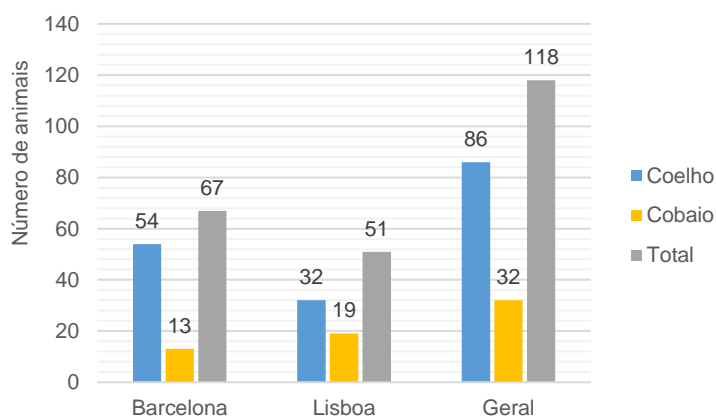
7. Resultados e discussão

Os coelhos e cobaios podem ser uma fonte de infecção para os seus tutores independentemente de apresentarem ou não lesões cutâneas de dermatofitose, apresentando potencial zoonótico, especialmente para crianças (Kaemer et al., 2012a); relativamente aos animais em estudo, 43,1% dos animais avaliados em Lisboa contactam com indivíduos de risco, sendo que 19,6% contactava com crianças, 19,6% com idosos e 3,9% com grávidas. Assim, sugere-se a colheita de amostras de cobaios (Kaemer et al., 2012a) e coelhos recentemente adquiridos para reduzir o risco de transmissão de dermatofitose a humanos, especialmente indivíduos de risco.

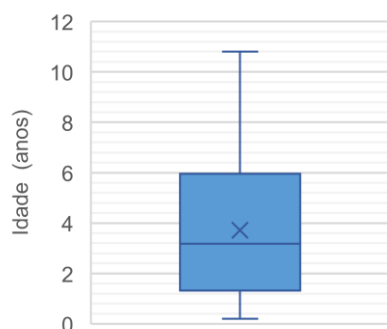
7.1. Caracterização da amostra

Neste estudo foram incluídos 118 animais, dos quais 86 coelhos e 32 cobaios. Em Barcelona recolheram-se 67 amostras, 52 a partir de coelho e 13 a partir de cobaio, o que é concordante com uma maior afluência em consulta de exemplares da primeira espécie em relação à segunda (numa proporção aproximada de 4:1). Por sua vez, em Lisboa recolheram-se 102 amostras a partir de 51 animais, sendo 32 coelhos e 19 cobaios, o que revela igualmente uma maior afluência em consulta de exemplares da primeira espécie em relação à segunda (numa proporção de aproximadamente 1,7:1) (Gráfico 3) (Tabela 15).

Gráfico 3 – Caracterização da amostra relativamente à espécie e ao local de recolha das amostras biológicas

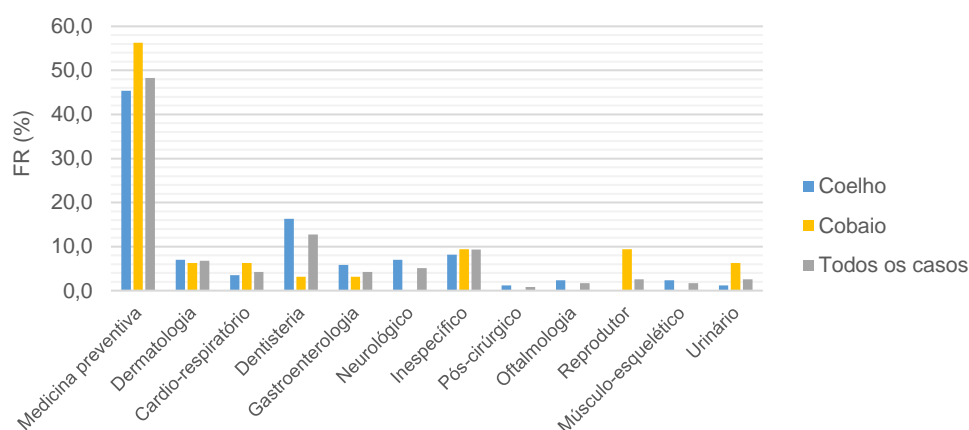


Dos 118 animais amostrados, 60 (50,8%) eram machos e 58 (49,2%) fêmeas, sendo que na população geral a idade encontrava-se compreendida num intervalo entre 1 mês e meio (0,2 anos) a 10 anos e 9 meses (10,8 anos), correspondendo a uma média de 3,72 anos e uma mediana de 3,15 (Tabela 15). A distribuição das idades apresenta-se no Gráfico 4.

Gráfico 4 – Distribuição de idades dos animais amostrados**Tabela 15 – Descrição da população em estudo quanto à espécie, género e idade**
(FA – Frequência Absoluta; FR – Frequência Relativa)

Localização	Total		Coelhos		Cobaio		Género				Idade	
	FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)	Macho		Fêmea		Média (anos)	Mediana (anos)
Barcelona	67	56,68	54	62,79	13	40,63	23	38,33	28	48,28	3,74	3,20
Lisboa	51	43,22	32	37,21	19	59,38	37	61,67	30	51,72	3,70	3,10
Total	118	100,00	86	100,00	32	100,00	60	100,00	58	100,00	3,72	3,15

Relativamente ao motivo de consulta dos animais amostrados, 57 animais apresentaram-se para consulta de medicina preventiva, ou seja, aproximadamente metade (n=118; 48,3%). Os restantes 61 animais (51,7%) apresentaram-se à consulta por problemas em diversos sistemas orgânicos. A razão primária de consulta encontra-se apresentada no Gráfico 5, sendo que os sinais inespecíficos incluem anorexia de origem desconhecida, choque de origem indeterminada, caquexia, apatia e prostração.

Gráfico 5 – Frequência Relativa (FR) do motivo primário de consulta dos animais amostrados

Apenas 8 (6,8%) dos animais teve como motivo primário de consulta problemas do foro dermatológico; no entanto, foram encontradas alterações dermatológicas em 17 (14,4%) dos animais que se dirigiram à consulta por medicina preventiva ou problema noutro sistema (Gráfico 6). No total, 25 (22,9%) animais manifestaram alterações dermatológicas (Tabela 16).

Gráfico 6 – Achados dermatológicos em consulta de medicina preventiva ou consulta por problema noutra sistema, expressos em valor absoluto e em percentagem (n=18)

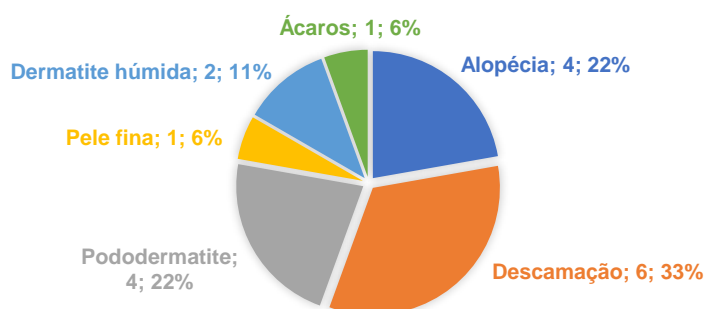


Tabela 16 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das lesões ou doenças cutâneas dos animais apresentados em consulta

	Coelho		Cobaio		Total	
	FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)
Alopécia	5	31,25	3	20,00	8	25,81
Acaridiose	0	0,00	1	6,67	1	3,23
Dermatite húmida	2	12,50	1	6,67	3	9,68
Descamação	2	12,50	4	26,67	6	10,35
Lesão crostosa	0	0,00	2	13,33	2	6,45
Lipoma	1	6,25	0	0,00	1	3,23
Otite externa	1	6,25	0	0,00	1	3,23
Pele fina	0	0,00	1	6,67	1	3,23
Pododermatite	4	25,00	3	20,00	7	22,58
Prurido	1	6,25	0	0,00	1	3,23
Total	16	100,00	14	100,00	30	100,00

7.2. Espécies isoladas

Foram isoladas 11 espécies fúngicas diferentes a partir das amostras biológicas colhidas para este estudo, tal como apresentado na Tabela 17.

Tabela 17 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das diferentes espécies fúngicas isoladas a partir das amostras biológicas colhidas durante os períodos de estágio na clínica Zoológico Veterinário, em Barcelona, no HEV da FMV-ULisboa e no total

	Espécie	Barcelona		Lisboa		Total	
		FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)
Fungos filamentosos	<i>Alternaria</i> sp.	4	5,19	7	4,17	11	4,49
	<i>Aspergillus</i> spp.	24	31,17	45	26,79	69	28,16
	<i>Chaetomium</i> sp.	1	1,30	1	0,60	2	0,82
	<i>Cladosporium</i> sp.	3	3,90	8	4,76	11	4,49
	<i>Mucor</i> spp.	2	2,60	12	7,14	14	5,71
	<i>Penicillium</i> spp.	14	18,18	25	14,88	39	15,92
	<i>Phoma</i> sp.	0	0,00	2	1,19	2	0,82
	<i>Rhizopus</i> sp.	4	5,19	12	7,14	16	6,53
	<i>Scopulariopsis</i> spp.	13	16,88	26	15,48	39	15,92
	Fungos filamentosos não identificados	10	12,99	19	11,31	29	11,84
Fungos leveduriformes	<i>Candida</i> sp.	2	2,60	9	5,36	11	4,49
	<i>Rhodotorula</i> sp.	0	0,00	2	1,19	2	0,82
Total		77	100,00	168	100,00	245	100,00

Os organismos mais frequentemente isolados foram *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Scopulariopsis* sp., representando aproximadamente metade das culturas positivas. Na Tabela 39 (Anexo 4) encontram-se discriminadas as espécies animais nas quais já foi reportada a presença das diversas espécies fúngicas isoladas neste estudo tendo por base diversas fontes bibliográficas.

Na Tabela 40 e na

Tabela 41 (Anexo 5) é descrita a morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos e leveduriformes isoladas em cultura, respetivamente.

7.2.1. Fungos filamentosos

7.2.1.1. *Alternaria* sp.

Foi possível identificar *Alternaria* sp. em 11 (4,5%) culturas positivas, sendo que apenas num caso ocorreu crescimento em DTM. Nesta situação é importante referir que ocorreu alteração da cor do meio, apesar de este fungo não pertencer ao grupo dos dermatófitos.

O género *Alternaria* é ubiqüitário e engloba espécies saprófitas, endofíticas (colonizadoras de tecidos de plantas) e patogénicas. A maioria são saprófitas do solo e fitopatogénicas (Petrini, 1991; Dedola et al., 2013; Woudenberg, Groenewald, Binder & Crous, 2013), sendo possível o seu isolamento a partir de coelhos e cobaios devido ao seu contacto frequente com material orgânico diverso, por vezes em decomposição, tais como restos de alimentos, feno, entre outros. Em humanos e animais podem constituir agentes de feo-hifomicose (Woudenberg et al., 2013). Apesar de ser um fungo ubiqüitário, as infeções promovidas por este género são raras e os indivíduos imunocomprometidos são os mais afetados.

Em humanos, a feo-hifomicose constitui uma micose oportunista cujas manifestações clínicas mais frequentes incluem infeções cutâneas e subcutâneas, seguidas de infeção ocular, rinossinusite e onicomicose, podendo também causar hipersensibilidade, asma e infeção disseminada (Pastor & Guarro, 2008; Avsever et al., 2017).

Nos pequenos animais, a alternariose é mais frequente em gatos. Nesta espécie a infeção encontra-se frequentemente associada à formação de nódulos indolores de crescimento lento na face, nariz e, menos frequentemente, outras partes do corpo (Outbridge, Myers & Summerbell, 1995; McKay, Cox & Foster, 2001; Seyedmousavi, Guillot & Hoog, 2013). A infeção no cão é mais rara, mas já foi reportada infeção associada a eritema e crostas nestes animais, podendo ser ulcerativa purulenta e afetar várias regiões do corpo (Cabañes, Abarca, Bragulat & Bruguera, 1988; Dedola et al., 2013; Avsever, Polat, Çamkerten & Aksoy, 2017). Em animais, a maioria dos casos está associado a exposição contínua a solo contaminado, traumatismo penetrante ou terapia imunossupressora (Avsever et al., 2017).

Este tipo de infeção ainda não foi reportado em coelhos e cobaios a infeção; no entanto, este género fúngico já foi isolado a partir de amostras de pelo destes animais (Balsari et al., 1981; d'Ovidio, Grable, Ferrara, & Santoro, 2014), assim como de outras espécies (Tabela 39) (Moriello & Deboer, 1991; Aho, 1983; Cabañes, Abarca, Bragulat & Castellá, 1996; Khosravi, 1996; Sympania & Baxter, 1996; Efuntoye & Fashanu, 2001; Paixão, Sidrim, Campos, Brilhante & Rocha, 2001; Bernardo, Lança, Guerra & Martins, 2005; Stojanov, Jakšić & Prodanov, 2007).

7.2.1.2. *Aspergillus* spp.

Neste estudo foi possível identificar *Aspergillus* spp. em 69 (28,2%) culturas positivas, sendo que em 13 casos ocorreu crescimento em meio DTM, 5 dos quais resultaram na alteração da cor deste meio. Relativamente a estas amostras, apenas uma deu origem a uma cultura pura de *Aspergillus*, e as restantes 4 a culturas mistas com *Penicillium* sp., *Scopulariopsis* sp. e uma espécie fúngica não identificada.

As espécies do género *Aspergillus* correspondem a fungos ubiqüitários e normalmente saprófitas (Latge, 1999). Este género abrange mais de 250 espécies, sendo que algumas subsistem apenas no ambiente, enquanto outras são consideradas potencialmente patogénicas para animais, humanos e plantas, sendo responsáveis por infeções oportunistas, principalmente em situações de imunossupressão (Pitt, 1994; Day, Petters & Clercx, 2013). Dado que *Aspergillus* spp. é encontrado no ambiente e que se multiplica em resíduos orgânicos (Day et al., 2013), seria esperado encontrar este microrganismo no coelho e cobaio visto que eles contactam com resíduos orgânicos provenientes do material em decomposição na jaula, como comida e feno e excrementos.

A aspergilose humana assume diversas formas, sendo a infeção do trato respiratório a mais comum, tanto do trato inferior como superior, encontrando-se também relacionada com aspergilose cardiovascular, do sistema nervoso central, gastrointestinal, do sistema genitourinário, ocular, osteoarticular, disseminada e ainda infeção cutânea, que pode desenvolver-se a partir de inoculação a partir de uma lesão (primária) ou secundária a disseminação hematogénica (Hope, Walsh & Denning, 2005).

No cão e o no gato, os membros deste género fúngico são responsáveis por infeções nasais, pulmonares e disseminadas. Muitas vezes *Aspergillus* spp. é um contaminante da superfície corporal, mucosas e do trato respiratório dos animais. Dado que são fungos oportunistas, a infeção por estes fungos ocorre principalmente em animais imunocomprometidos, nomeadamente com *Diabetes mellitus*, neutropénia persistente, quimioterapia, terapêutica com glucocorticóides, infeção concomitante e doenças imunitárias (Day et al., 2013).

Em coelhos, Scott et al. (2001) reportaram uma infeção por *Aspergillus* sp. na pele e nos pulmões numa ninhada de coelhos, como já referido na seção “4.4.2. Dermatomicoses” (pp. 39). Em cobaios nunca foi detetada infeção espontânea por este género fúngico. No entanto, é um fungo muito comum no ambiente, já tendo sido isolado a partir de amostras de pelo de coelho e cobaio (Balsari et al., 1981; d'Ovidio et al., 2014), assim como de outras espécies (Tabela 39) (Moriello & Deboer, 1991; Aho, 1983; Cabañes et al., 1996; Khosravi, 1996; Sympania & Baxter, 1996; Efuntoye & Fashanu, 2001; Paixão et al., 2001; Bernardo et al., 2005; Bentubo, Fedullo, Corrêa, Teixeira & Coutinho, 2006; Stojanov et al., 2007).

7.2.1.3. *Chaetomium* sp.

Foi possível identificar *Chaetomium* sp. em 2 (0,8%) culturas positivas, após incubação das amostras em meio SCA.

O género *Chaetomium* engloba mais de 400 espécies ubiqüitárias que residem em matéria orgânica (Ahmed et al., 2016; Wang et al., 2016). Dado que estes fungos são fortemente decompositores de celulose, podem encontrar-se em locais como solo, madeira, palha e materiais diversos em decomposição (Institut National de Santé Publique du Québec, 2016a; Malloch, 2017), sendo expectável isolá-los a partir de coelhos e cobaios devido ao seu alojamento numa jaula com matéria orgânica rica em celulose em decomposição, nomeadamente madeira (em caso de utilização de madeira prensada como substrato) e feno. Em humanos, o seu papel patogénico é negligenciado (Ahmed et al., 2016); no entanto, encontra-se reportada a sua associação com onicomicoses (Naidu, Singh & Pouranik, 1991), infeções superficiais, infeções profundas ou sistémicas (Ahmed et al., 2016).

Em cão e gato ainda não foram reportadas lesões espontâneas, mas a sua presença já foi reportada nestas e noutras espécies tais como cavalos, vacas e felídios selvagens (Tabela 39) (Aho, 1983; Marchisio et al., 1995; Cabañes et al., 1996; Paixão et al., 2001; Bentubo et al., 2006). O estudo de Marchisio et al. (1995) descreveu um caso de um cão jovem com lesões graves de dermatofitose causada por *M. canis* a partir do qual também foi isolado o fungo *Chaetomium* sp..

Em coelho e cobaio nunca foram reportadas lesões espontâneas promovidas por este género fúngico e também nunca havia sido isolado a partir da pele e pelo destes animais.

7.2.1.4. *Cladosporium* sp.

Foi possível identificar *Cladosporium* sp. em 11 (4,5%) culturas positivas, sendo que apenas um dos isolados foi obtido em DTM, não tendo promovido alteração da cor do meio.

Cladosporium sp. é um dos fungos ambientais mais comuns em todo o mundo (Institut National de Santé Publique du Québec, 2016b). O género *Cladosporium* engloba muitas espécies, mas apenas algumas já foram identificadas como agentes causadores de infeções subcutâneas denominadas cromoblastomicoses. Existem também espécies fitopatogénicas e espécies saprófitas que são frequentemente isoladas em laboratório (Fisher & Cook, 1998; Institut National de Santé Publique du Québec, 2016b). Sendo organismos saprófitas, estes fungos encontram-se no ar e solo, sendo também isolados a partir de textéis e matéria orgânica vegetal em decomposição (Fisher & Cook, 1998), sendo por isso expectável a sua presença no pelo de coelho e cobaio.

Em humanos, *Cladosporium* sp. causa, raramente, lesões cutâneas e subcutâneas (Drabick, Gomatos & Solis, 1990; Annessi, Cimitan, Zambruno & Silverio, 1992; Sood & Makkar, 2000; Vieira, Milheiro & Pacheco, 2001) e doença pulmonar (Kwon-Chung, Schwartz & Rybak, 1975;

Bensch et al., 2010). Também já foi reportado o isolamento deste gênero a partir de uma lesão ocular e de líquido cefalo-raquidiano (Kantarcioğlu, Yücel & de Hoog, 2002).

Em cão, encontram-se reportadas infecções pulmonares (Spano, Zuliani, Peano & Bertazzolo, 2018), encefalite granulomatosa e nefrite associada a infecção por este agente (Poutahidis et al., 2009). Em gato, foram também reportadas infecções cerebrais (Lloret et al., 2013).

Cladosporium sp. ainda não foi associado a lesões em coelho e cobaio; no entanto, já foi isolado a partir de amostras de pelo provenientes destes animais (Balsari et al., 1981; d'Ovidio et al., 2014), tal como do pelo de outras espécies animais (Tabela 39) (Moriello & Deboer, 1991; Aho, 1983; Khosravi, 1996; Sympania & Baxter, 1996; Sierra, Guillot, Jacob, Bussiéras & Chermette, 2000; Efuntoye & Fashanu, 2001; Paixão et al., 2001; Bernardo et al., 2005; Bentubo et al. 2006; Stojanov et al., 2007).

7.2.1.5. *Mucor* spp.

Neste estudo foi possível identificar *Mucor* spp. em 14 (5,7%) culturas positivas, sendo que os isolados foram todos obtidos em meio SCA.

O gênero *Mucor* faz parte da ordem Mucorales, sendo constituído por fungos ubiqüitários presentes no solo e matéria vegetal em decomposição, tornando-o possível de ser encontrado no pelo de coelho e cobaio.

Encontram-se descritas infecções em humanos promovidas por *Mucor* spp. (Zachary, Chapin, Binns & Tashima, 2011). A mucormicose é uma doença fúngica grave que pode ser localizada ou disseminada, encontrando-se associada não só a *Mucor* spp. mas também a *Rhizopus* spp. (Neri, Ciardo & Croce, 2002; Shirani et al., 2008). Ocorre mais frequentemente em pacientes imunocomprometidos como pós-transplantados, com doenças imunossupressoras e diabetes, e estão normalmente associados a doença dos seios nasais, ocular, cerebral e pulmonar (Sims & Ostrosky-Zeichner, 2007). A infecção da pele e tecidos moles pode também ocorrer (Roden et al., 2005). A infecção cutânea resulta da contaminação por esporos de uma solução de continuidade em pacientes com ou sem imunodeficiência (Zachary et al., 2011).

Em animais, a mucormicose causada por *Mucor* é extremamente rara e tem mau prognóstico, estando mal descrita no cão e gato. Nestas espécies, a maioria dos casos reportados apresenta um curso agudo ou subagudo, afetando o sistema gastrointestinal ou respiratório (Awadin, Mosbah, Youssef & El-Satar, 2015). No entanto, no cão já foi isolado *Mucor* sp. a partir de lesões cutâneas (Jand & Gupta, 1989), e também a partir de uma infecção subcutânea agressiva (Awadin et al., 2015).

Em coelho e cobaio não se encontram reportadas infecções por *Mucor* sp.; no entanto, este fungo tem sido isolado a partir do pelo destes animais (d'Ovidio et al., 2014), assim como a partir do pelo de outras espécies animais (Tabela 39) (Aho, 1983; Khosravi, 1996; Sympania & Baxter, 1996; Efuntoye & Fashanu, 2001; Stojanov et al., 2007).

7.2.1.6. *Penicillium* spp.

Foi possível identificar *Penicillium* spp. em 39 (15,9%) culturas positivas, sendo que 13 isolados foram obtidos a partir das culturas em DTM, tendo-se observado alteração da cor do meio em dois casos. Estas duas situações corresponderam a culturas mistas, tendo-se isolado *Aspergillus* sp. a partir de uma das amostras e *Scopulariopsis* sp. a partir da outra.

O género *Penicillium* é normalmente contaminante de substratos ou um agente invasor secundário. As espécies patogénicas para os humanos são raras; no entanto, os membros deste género podem causar infeções oportunistas tais como queratite micótica, otomicose, endocardite e infeções cutâneas (Fisher & Cook, 1998; University of Adelaide, 2016b).

Em cães e gatos é normalmente responsável por infeções nasais, dos seis nasais, pulmonares ou disseminadas, geralmente muito raras (Day et al., 2013).

Em coelho e cobaio nunca foi reportada infeção por este agente; no entanto, este fungo tem sido isolado a partir do seu pelo (Balsari et al. 1981; d'Ovidio et al., 2014), assim como a partir do pelo de outras espécies animais (Tabela 39) (Aho, 1983; Moriello & Deboer, 1991; Cabañes et al. 1996; Khosravi, 1996; Sympania & Baxter, 1996; Efuntoye & Fashanu, 2001; Sierra et al., 2000; Paixão et al., 2001; Bernardo et al., 2005; Bentubo et al., 2006; Stojanov et al., 2007).

7.2.1.7. *Phoma* sp.

Foi possível identificar *Phoma* sp. em 2 (0,8%) culturas positivas em meio SCA.

O género *Phoma* é ubiqüitário, ambiental e fitopatogénico, podendo estar presente no solo, ar e plantas (Tullio et al., 2010), possibilitando a sua presença no pelo das espécies em estudo.

Em humanos já foram reportadas infeções superficiais ou profundas da pele, córnea, tecido subcutâneo e pulmões causadas por espécies fúngicas deste género (Zaitz et al., 1997). Em gato, já foi reportada uma infeção cerebral (Grooters & Foil, 2013), não existindo descrição de infeções no cão. Este género já foi também associado a infeção no pavilhão auricular num veado confirmada histopatologicamente (Gordon, Salkin & Stone, 1975). Em coelho e cobaio este fungo nunca foi associado a infeção, sendo que este trabalho representa a primeira descrição do seu isolamento a partir do pelo destes animais; no entanto, já foi isolado a partir do pelo de cão e gato (Tabela 39) (Aho, 1983; Cabañes et al. 1996; Bernardo et al., 2005).

7.2.1.8. *Rhizopus* sp.

Neste estudo foi possível identificar *Rhizopus* sp. em 16 (6,5%) culturas positivas, sendo que um dos isolados foi obtido após incubação em DTM.

O género *Rhizopus* é ubiqüitário e pode ser encontrado no solo e em vegetais em decomposição, sendo expectável a sua presença no pelo do coelho e cobaio visto que eles contactam com resíduos orgânicos provenientes do material em decomposição na jaula. Há

um maior risco de infecção por este agente quando existe imunossupressão, debilidade, deficiências nutricionais ou traumatismo de tecidos, desenvolvendo-se uma mucormicose.

Em humanos, a infecção ocorre mais frequentemente através da inalação dos esporangiosporos, afetando os pulmões e os seios paranasais, podendo estender-se ao cérebro; se houver inoculação traumática, pode ocorrer infecção do tecido cutâneo e subcutâneo, córnea e ouvidos; se houver contaminação do alimento, pode desenvolver-se infecção intestinal (Fisher & Cook, 1998; Shirani et al., 2008).

A mucormicose causada por *Rhizopus* não é frequente em cão e gato, existindo registos de infeções do trato gastrointestinal ou respiratório de evolução aguda ou subaguda (Shirani et al., 2008). Em coelho e cobaio, nunca foi reportada infecção por este género fúngico, tendo sido no entanto já isolado a partir do seu pelo (d'Ovidio et al., 2014), assim como a partir do pelo de outras espécies animais (Tabela 39) (Aho, 1983; Moriello & Deboer, 1991; Khosravi, 1996; Sympania & Baxter, 1996; Efuntoye & Fashanu, 2001; Paixão et al., 2001; Bernardo et al. 2005).

7.2.1.9. *Scopulariopsis* spp.

Foi possível identificar *Scopulariopsis* spp. em 39 (15,9%) culturas positivas, sendo que 13 isolados foram obtidos a partir de amostras semeadas em DTM, tendo ocorrido alteração da cor do meio em 6 casos. Nestas situações, 4 amostras originaram culturas puras de *Scopulariopsis* sp., sendo que a partir das restantes 2 amostras foram isolados outros fungos, num dos casos *Aspergillus* sp. e no outro *Penicillium* sp..

O género *Scopulariopsis* é universal e pode ser encontrado no solo, em vegetais em decomposição e no ar (Fisher & Cook, 1998), sendo expectável a sua presença no pelo das espécies animais em estudo.

Em humanos não é normalmente considerado como fungo patogénico; no entanto, pode ser responsável por onicomicoses (Summerbell, Kane & Kraiden, 1989; Greer, 1995), já tendo sido reportadas infeções cutâneas (Dhar & Carey, 1993), queratomicoses (Ragge, Hart, Easty & Tyers, 1990), septicémia (Neglia, Hurd, Ferrieri & Snover, 1981), otites e pneumonias (Fisher & Cook, 1998), apesar destas infeções serem raras e ocorrerem normalmente em hospedeiros imunocomprometidos; no entanto, já foram reportadas infeções cutâneas (Cox & Irving, 1993; Creus, Umberto, Torres-Rodríguez & López-Gil, 1994; Ginarte, Pereiro, Fernández-Redondo & Toribio, 1996) e subcutâneas (Markley, Philpott & Weidman, 1936) em indivíduos imunocompetentes.

Foi recentemente reportado o primeiro caso de rinossinusite por *Scopulariopsis* sp. em cão, encontrando-se também descritos dois casos de infeção sistémica (Welsh & Ely, 1999; Sri-Jayantha, Matthews & Scharf, 2019). Não se encontram descritas infeções por estes agentes em coelho e cobaio, tendo sido no entanto já isolados membros deste género fúngico a partir do seu pelo (Balsari et al., 1981, d'Ovidio et al., 2014), assim como a partir do pelo de outras

espécies animais (Tabela 39) (Aho, 1983; Cabañes et al., 1996; Khosravi, 1996; Sympania & Baxter, 1996; Paixão et al., 2001; Bernardo et al., 2005; Bentubo et al., 2006).

7.2.1.10. Fungos filamentosos não identificados

Não foi possível proceder à identificação de 12,5% das colónias de fungos filamentosos obtidas (n=232) a partir das amostras em estudo devido a vários fatores.

Como referido anteriormente, a identificação dos fungos baseia-se concomitantemente nas suas características macro e microscópicas, sendo que não é possível proceder à identificação apenas com base na morfologia macroscópica; no entanto, o oposto é possível. Para a realização da identificação microscópica, têm de estar presentes na preparação alguns elementos característicos de determinadas espécies fúngicas, nomeadamente estruturas reprodutoras (Fisher & Cook, 1998).

Em primeiro lugar, a técnica utilizada para a observação microscópica das colónias foi a montagem em lâmina com fixação e coloração com azul de lactofenol. Esta técnica é rápida e simples e permite a identificação da maioria dos fungos; no entanto, apresenta também algumas desvantagens. O facto de o micélio ter de ser separado com agulhas de dissecação faz com que se perca muitas vezes a estrutura real dos elementos fúngicos, especialmente no caso das estruturas mais frágeis e do arranjo entre os conídios e conidióforos, resultando muitas vezes na separação dos elementos e dificultando bastante a identificação das colónias (Fisher & Cook, 1998; Woo, Ngan, Chui, Lau & Yuen, 2010). Por outro lado, há colónias com textura muito densa e rígida a partir das quais é muito difícil realizar a separação do micélio com as agulhas de dissecação, revelando-se como blocos escuros de material fúngico ao microscópio, nos quais não é possível a visualização de elementos passíveis de identificação. Existe uma técnica denominada cultura em lâmina, na qual é colocado um bloco de agar em cima de uma lâmina e neste são inoculadas pequenas quantidades da cultura a identificar. Após incubação, esta lâmina é observada ao microscópio e as estruturas fúngicas mantêm-se intactas, visto não terem sofrido qualquer tipo de manipulação adicional (Woo et al., 2010). No entanto, é uma técnica que exige mais tempo e recursos, não tendo sido possível pô-la em prática durante este estudo.

Em terceiro lugar, em algumas preparações não foi possível observar quaisquer elementos característicos, tendo-se observado apenas hifas. Estas situações podem ocorrer quando os fungos não estão em fase de reprodução ativa (Fisher & Cook, 1998).

7.2.2. Fungos leveduriformes

As leveduras são microrganismos da microbiota superficial de animais e humanos, podendo ser encontradas em superfícies húmidas internas e externas, trato digestivo e região perianal (Heseltine, Panciera & Saunders, 2003; Moretti et al., 2004). No entanto, estão associadas a doença secundária um distúrbio físico-químico ou imunitário (Brito et al., 2009).

Foi possível obter 13 isolados correspondentes a fungos leveduriformes a partir das amostras em estudo, o que representa uma proporção de 5,3% em relação à totalidade das colónias fúngicas obtidas. O aspeto macro e microscópico das colónias leveduriformes obtidas parece sugerir que correspondem a *Candida* sp. e *Rhodotorula* sp.

No entanto, a identificação de leveduras pode requerer, para além da realização da preparação microscópica a partir das colónias, a realização de subcultura em meio Corn Meal Tween e estudos posteriores, como sejam testes bioquímicos (Fisher & Cook, 1998; Saeed et al., 2018). No presente estudo apenas foi realizado o primeiro procedimento.

Das 13 colónias de fungos leveduriformes obtidas, 7 (n=13; 53,4%) foram isoladas em DTM, não tendo sido observada alteração da cor do meio.

7.2.2.1. *Candida* sp.

Foi possível identificar *Candida* sp. em 11 (4,5%) culturas positivas, sendo que em 7 casos ocorreu crescimento em DTM, não tendo provocado alteração na cor do meio.

O género *Candida* inclui mais de 150 espécies (Pressler, 2012) e pertence à microbiota comensal de humanos e animais saudáveis (Odds, 1987; Quinn et al., 2011). Contrariamente aos fungos filamentosos descritos anteriormente, é incomum no ambiente (Quinn et al., 2011). Em humanos, qualquer órgão ou tecido pode apresentar infeções por *Candida* sp. (Fisher & Cook, 1998). Este género fúngico pode provocar infeções superficiais (pele ou mucosas), invasivas localmente e sistémicas, sendo que as mais comuns são as superficiais, limitando-se à pele, orofaringe e trato gastrointestinal; no entanto, podem também causar lesões ulcerativas na bexiga e esófago e lesões necróticas nos tratos gastrointestinal, respiratório superior e genitourinário, podendo ainda disseminar-se por via hematogénica (Brusselaers, Blot & Vogelaers, 2011).

Nos pequenos animais, *Candida* sp. pode causar estomatite, enterite, lesões cutâneas (cão), cistite, e lesões oculares (gato); em ambas as espécies podem causar infeções sistémicas (Raposo, Nobre, Fernandes & Porto, 1996; Waxverlem, 2002).

Mignon, Symoens e Losson (2002) reportaram uma queilite em cobaio causada por esta levedura após dispersão a partir da autolimpeza do prepúcio, local onde esta levedura é comensal. Em coelho não foi possível encontrar qualquer relato de infeção associada a *Candida* sp.. No entanto, Balsari et al. (1983) isolou esta levedura do pelo de um cobaio assintomático, e Moriello & Deboer (1991), Khosravi (1996), Sierra et al. (2000), Paixão et al. (2001) e Bernardo et al. (2005) reportaram previamente a sua presença no pelo de cão e gato (Tabela 39).

7.2.2.2. *Rhodotorula* sp.

Foi possível identificar *Rhodotorula* sp. em 2 (0,8%) culturas positivas, sendo que os isolados foram todos obtidos em meio SCA.

Este é um género de fungos ambientais que podem ser encontrados no solo, água de lagos e oceanos, sumos de fruta, cortinas de banho e escovas de dentes, ou seja, em ambientes húmidos. Dado que pode estar presente em apartamentos, a sua presença em coelho e cobaio é expectável dado que a maioria dos animais vivia exclusivamente *indoor*.

Em humanos, *Rhodotorula* sp. está associada a infeções oportunistas raras, tais como peritonites em pacientes submetidos a diálise. Em cães, encontram-se descritos dois casos de epididimite e cistite (University of Adelaide, 2016a; Pressler, 2012).

Não foi ainda reportada infeção por *Rhodotorula* sp. em coelhos e cobaios, nem foi descrita a sua presença na pele e pelo destes animais; no entanto, já foi isolado a partir de outros animais, como cão e gato (Tabela 39) (Aho, 1980; Paixão et al., 2001).

7.2.3. Avaliação integrativa

A micobiota da pele e pelo do coelho e do cobaio é composta principalmente por fungos provenientes do meio ambiente, tal como acontece em outros animais (Moriello & Deboer, 1991). Apesar de não ter sido possível isolar fungos dermatófitos a partir das amostras em estudo, este trabalho permitiu descrever a microbiota fúngica da pele e pelo do cobaio, que se demonstrou semelhante à de outros animais, tais como o cão e gato (Tabela 39, pp. 120). Neste estudo foi reportada pela primeira vez a presença dos fungos *Chaetomium* sp., *Phoma* sp. e *Rhodotorula* sp. a partir do pelo de coelho e cobaio, apesar de estas espécies já terem sido isolados a partir do pelo de cão e gato.

Relativamente aos fungos filamentosos identificados, apenas *Aspergillus* sp. foi previamente associado a infeção cutânea numa das espécies de estudo, o coelho; no entanto, as restantes espécies identificadas correspondem a fungos filamentosos saprófitas muito frequentemente isolados a partir do ambiente e animais, apesar de nem todos terem sido reportados previamente nestas espécies. Assim sendo, o coelho e o cobaio encontram-se regularmente em contacto com estes fungos saprófitas. Dado que já foram reportadas lesões causadas por estes fungos em outras espécies animais, como cão e gato, e em humanos, é importante ter em atenção que têm a capacidade de causar doença. Apesar desta ocorrer maioritariamente em animais com imunossupressão e estados nutricionais deficientes, também já foi reportada em indivíduos saudáveis após lesão abrasiva ou perfurante; assim sendo, apesar de serem saprófitas ubíquos e, na maioria das situações, não patogénicos, podem causar doença especialmente se estiverem presentes no ambiente em grande quantidade, tal como observado por Scott et al. (2001) em coelhos jovens com infeção por *Aspergillus* sp. veiculado através do substrato altamente contaminado.

Por outro lado, é muito importante lembrar que, apesar de podermos isolar estes fungos a partir de lesões cutâneas, estes podem não ser a causa primária das mesmas, uma vez que pode ter ocorrido invasão secundária após uma solução de continuidade ou infeção bacteriana. É muito importante interpretar os resultados como um todo, sendo que os sinais

clínicos, a cultura fúngica e, se possível, a histopatologia devem ser tidos em consideração. Em infecções de pele em que não é possível recolher uma amostra completamente asséptica, a histopatologia é o método diagnóstico que nos permite associar o fungo à lesão (Fisher & Cook, 1998).

Relativamente aos fungos leveduriformes, a sua maioria são microrganismos oportunistas, causando infecção em circunstâncias favoráveis, tais como terapêutica antibiótica que altere a microbiota comensal ou penetração através de uma lesão. A gravidade da infecção depende do estado hígido do hospedeiro e da sua resposta à mesma (Fisher & Cook, 1998). A imunossupressão ou fatores como terapêutica antimicrobiana prolongada podem alterar a microbiota das superfícies mucosas e facilitar a proliferação de leveduras (Quinn et al., 2011). Dado que leveduras como *Candida* sp. são comensais da microbiota de animais e humanos (Quinn et al., 2001), a quantificação das colónias obtidas após cultura é importante para distinguir uma infecção da mera presença comensal do fungo. O primeiro passo para provar que uma levedura é responsável por doença é isolá-la em número significativo comparativamente às restantes espécies de microrganismos presentes em determinado local (Fisher & Cook, 1998). Assim sendo, a identificação de leveduras após cultura deve ser interpretada no contexto dos sinais clínicos e de acordo com a concentração dos elementos leveduriformes. Adicionalmente, o seu papel na infecção pode ser confirmado pela evidência histopatológica da invasão tecidual. Outros testes podem ser realizados, tais como PCR, que fornecem resultados mais rapidamente mas raramente são utilizados (Pressler, 2012).

Deste modo, quando é realizada cultura a partir de uma lesão é necessário ter em consideração diversos fatores antes de relacionar a espécie isolada com a infecção, nomeadamente a concentração de microrganismos isolados, o estado clínico do animal e a possibilidade de contaminação da amostra ou da cultura (Borman & Johnson, 2014). Se a cultura apresentar uma colónia de um fungo ambiental, especialmente se não estiver epidemiologicamente relacionado com a amostra colhida (como os pelos), pode-se suspeitar de contaminação da cultura.

De todas as lesões dermatológicas observadas neste estudo, as lesões de alopecia e crostosas levaram à suspeita de dermatofitose. Desta forma, as espécies fúngicas isoladas a partir das amostras colhidas em animais com estes sinais foram *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Candida* sp., *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Rhodotorula* sp. e *Scopulariopsis* sp.. Nenhuma destas espécies fúngicas foi identificada exclusivamente nas amostras dos animais com estas lesões. Considerando todos os animais com lesões de alopecia e crostosas, duas situações apresentavam-se particularmente suspeitas. O primeiro caso era um animal debilitado que apresentava lesões crostosas na cabeça e que tinha sido sujeito a terapêutica antibiótica no mês anterior devido a uma pododermatite e a terapia antifúngica devido a infecção micótica na mucosa oral (não confirmada através de cultura). A partir de amostras deste animal foi possível isolar *Candida* sp. em elevada quantidade. Apesar de já ter sido

isolada a partir de cobaios assintomáticos (Balsari et al., 1983), esta levedura, já reportada como causa de queilite em cobaio (Mignon, Symoens & Losson, 2002), pode ter colonizado uma lesão pré-existente, como uma laceração, e aí ter sido responsável pelo desenvolvimento de uma infecção. O elevado número de colónias obtido após cultura apoia esta hipótese, distinguindo de uma mera presença no pelo.

O outro animal possuía lesões de alopecia bastante suspeitas de dermatofitose nas quatro extremidades, e a recolha de amostra incidiu nas lesões apresentadas. Foram obtidas culturas puras de *Scopulariopsis* sp. de crescimento bastante rápido tanto em SCA como em DTM, o que indica que o material biológico se encontrava bastante contaminado. Nesta situação também pode ter ocorrido colonização de uma ferida pré-existente por este agente ubiqüitário no ambiente; no entanto, não pode ser descartada a hipótese de que este fungo possa ter sido o responsável por esta lesão, visto se encontrar descrita a sua relação com lesões muito semelhantes às provocadas por dermatófitos no homem (Cox & Irving, 1993). Para confirmação seria necessário realizar histopatologia.

É ainda importante referir que alguns dos géneros fúngicos identificados neste trabalho são considerados potenciais alergénios (Esch, Hartsell, Crenshaw & Jacobson, 2001), principalmente no Homem mas também em animais (Reedy et al., 1997), apesar de esta relação não ter sido ainda estudada em coelho e cobaio. Este potencial alergénico encontra-se associado a alergia respiratória; no entanto, os testes de sensibilização cutânea incluem alguns fungos, sendo que os mais comuns são *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Bipolaris* sp., *Botrytis* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Stemphylium* sp. (Esch et al., 2001). Deste modo, é possível que a presença destes fungos no meio ambiente possa provocar algum tipo de reação alérgica cutânea num animal e que este apresente prurido, produzindo abrasões posteriormente colonizadas por este fungo presente no ambiente. Alguns dos fungos isolados neste estudo a partir de animais com lesões cutâneas, nomeadamente *Alternaria* sp., *Aspergillus* spp. e *Cladosporium* sp., constituem alguns fungos mais frequentemente responsáveis por alergias (Esch et al., 2001). Assim sendo, é importante realçar que os médicos veterinários tenham em consideração as infeções fúngicas não dermatofíticas como diagnóstico diferencial e que sejam realizadas culturas não só em meios seletivos para diagnóstico de dermatofitose, como DTM, Mycobiotic Agar ou Mycosel, mas também em meios que permitam o crescimento de fungos saprófitas já reportados em lesões cutâneas.

7.3. Análise da significância das variáveis independentes

Muitas das variáveis em estudo, tais como a espécie, idade e a presença de doença dentária, são frequentemente referidas como fatores predisponentes ou relacionados com dermatofitose em coelhos e cobaios. Dado que neste estudo não foram encontrados fungos dermatófitos, a variável de interesse “presença de fungos dermatófitos” não foi avaliada; no entanto, foram descritas as espécies fúngicas isoladas a partir do pelo destes animais e, deste

modo, procurou-se avaliar a relação entre as variáveis dependentes previamente referidas (“positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas” por cultura positiva) e as diversas variáveis independentes (Tabela 14, pp. 46). No Anexo 6 encontram-se a Tabela 42 e a Tabela 43 que permitem identificar quais as variáveis independentes que melhor explicam a variação da positividade na cultura micológica e do número de espécies fúngicas isoladas e de que forma. Relativamente à análise das variáveis, foi implementado um modelo de regressão usando o software R. Para cada uma das variáveis independentes foram determinados a estimativa do respetivo coeficiente de regressão, desvio padrão e valor-p necessários à interpretação dos resultados que serão apresentados em tabela. Foi definida para cada uma destas variáveis uma categoria de referência, a qual não constará na tabela pois serve como referência para a análise. O valor-p é um indicador do nível de significância. Quanto menor o seu valor maior é a significância da variável independente na explicação da variável dependente. A Tabela 18 é uma ferramenta auxiliar para a interpretação dos resultados dos valores-p que serão apresentados. O símbolo apresentado em frente ao valor-p indica que a variável é significativa para os níveis mais usuais de significância.

Tabela 18 – Símbolos utilizados para ilustrar a relação entre as variáveis e o respetivo grau de significância

Símbolo	Grau de significância
.	0.1
*	0.05
**	0.01
***	0.001

7.3.1. Local

Para a análise desta variável foram utilizados apenas os dados referentes às amostras obtidas através do método de arrancamento de pelos com pinça, visto não ser justa a comparação de resultados obtidos a partir de amostras obtidas através de métodos de colheita diferentes. A variável “local” foi dividida em duas categorias: “Barcelona” e “Lisboa”. Na Tabela 19 encontram-se apresentadas a variável, as respetivas categorias e a frequência relativa de cada uma delas.

Tabela 19 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “local”

Variável	Categorias	FR (%)
Local	Barcelona	56,78
	Lisboa	43,22

Da totalidade das culturas realizadas neste estudo, 56,8% foram realizadas a partir de amostras colhidas em “Barcelona” e 43,2% a partir de amostras colhidas em “Lisboa”.

Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “local” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “local” corresponde a “Barcelona”.

Os valores indicam que não existe evidência estatística de que a variável “local” seja significativa, ou seja, que tenha relação com a “positividade na cultura micológica” nem com o “número de espécies fúngicas isoladas” a partir de uma amostra. Assim sendo, os resultados indicam que a “positividade na cultura micológica” e o “número de espécies fúngicas isoladas” a partir de uma amostra não são significativamente superiores em “Lisboa” do que em “Barcelona”, nem o contrário.

7.3.2. Espécie

A variável “espécie” foi dividida em duas categorias: “coelho” e “cobaio”. Na Tabela 20 encontram-se apresentadas a variável, as respetivas categorias e a frequência relativa de cada uma delas.

Tabela 20 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “espécie”

Variável	Categorias	FR (%)
Espécie	Coelho	72,88
	Cobaio	27,12

Na globalidade, 72,9% das culturas foram realizadas a partir de amostras colhidas a partir de “coelho” e 27,1% a partir de “cobaio”.

Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “espécie” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “espécie” corresponde a “cobaio”.

Os valores indicam que existe evidência estatística de que a variável “espécie” é significativa (com um grau de significância de 0,01) na explicação da “positividade na cultura micológica”. Uma vez que o coeficiente para a categoria “coelho” é negativo, pode-se concluir que há uma menor probabilidade de que amostras provenientes de um animal desta espécie deem origem a uma cultura positiva relativamente a amostras de “cobaio” (categoria de referência).

Relativamente aos fungos dermatófitos, Donnelly et al. (2000) e Kraemer et al. (2012b) afirmam que os cobaios têm uma maior propensão para desenvolver dermatofitose. Estudos anteriores reportam o isolamento de *T. mentagrophytes* a partir de cobaios assintomáticos em proporções entre 1,4 e 30,0%, enquanto que no coelho este intervalo é mais reduzido, entre 0 e 6,5% (Rosenthal & Wapnick, 1963; Feuerman, Alteras, Hönig & Lehrer, 1975; Balsari et al., 1981; Vangeel et al., 2000). Apesar de *M. canis* já ter sido isolado a partir de animais de produção assintomáticos (Zaror & Casas, 1988), esta observação não parece ser frequente. Apesar de já existir informação disponível acerca da micobiota do pelo do coelho e do cobaio, não existem estudos que comparem estas duas espécies. Neste estudo foi possível observar evidência estatística de que as amostras colhidas a partir de cobaio têm maior probabilidade de originar uma cultura micológica positiva e, considerando os estudos disponíveis acerca de

fungos dermatófitos que descrevem uma frequência de portadores assintomáticos superior nesta espécie, é possível que a autolimpeza dos cobaios seja menos eficiente que a dos coelhos. Quesenberry et al. (2012) referem ainda que a limpeza entre cobaios é também reduzida, ao contrário do observado em relação a coelhos. Segundo Feusner, Hembacher & Phillips (2009), a autolimpeza permite a manutenção da higiene do animal através da remoção de sujidade e parasitas. Se esta limpeza não for realizada tão frequente ou eficazmente, existirá maior quantidade de microrganismos à superfície da pele e maior propensão para doença dermatológica, o que também poderá explicar a maior propensão do cobaio para a dermatofitose. De facto, um estudo em gatos com dermatofitose relatou que os animais sem colar isabelino tinham possibilidade de realizar a sua autolimpeza e possuíam lesões apenas na cabeça, enquanto que os gatos com colar possuíam lesões mais generalizadas, sugerindo que o comportamento de limpeza pode limitar o desenvolvimento de lesões (Miller et al., 2013). Uma vez que este estudo não permitiu evidenciar esta maior predisposição do cobaio para a dermatofitose, deverão ser realizados estudos futuros em que se obtenham resultados positivos para estes agentes de modo a ser possível confirmar tal facto.

7.3.3. Género

A variável “género” foi dividida em duas categorias: “macho” e “fêmea”. Na Tabela 21 encontram-se apresentadas a variável, as categorias e a frequência relativa de cada uma das categorias.

Tabela 21 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “género”, no total e por espécie

Variável	Categorias	FR (%)		
		Total	Coelho	Cobaio
Género	Macho	50,85	52,33	46,88
	Fêmea	49,15	47,67	53,13

Os dois géneros estão representados equitativamente em ambas as espécies, sendo que foram avaliados 50,85% de machos e 49,15% de fêmeas no total.

Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “género” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “género” corresponde a “fêmea”.

Os valores indicam que não existe evidência estatística de que a variável “género” seja significativa, ou seja, que tenha relação com a “positividade na cultura micológica” nem com o “número de espécies fúngicas isoladas” a partir de uma amostra. Assim, os resultados indicam que a “positividade na culturas micológica” e o “número de espécies fúngicas” não são significativamente superiores em culturas realizadas a partir de “machos” do que de “fêmeas”, nem o oposto.

Estudos anteriores também não encontraram qualquer predisposição de género para a dermatofitose, nomeadamente estudos realizados em coelho, cobaio, gato, cão, coelhos e roedores silvestres (Lewis, Hoff, Bigler & Jefferies, 1975; Gallo et al., 2005; Gallo, Tizzani, Peano, Rambozzi & Meneguz, 2005; Drouot, Mignon, Fratti, Roosje & Monod, 2009; Kraemer et al., 2012b).

7.3.4. Idade

A estatística descritiva referente à variável “idade” já foi apresentada em “7.1. Caracterização da amostra” (pp. 48). Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “idade” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente.

A análise das tabelas referidas permite concluir que existe evidência estatística de que a variável “idade” é significativa na explicação da “positividade na cultura micológica” (com um grau de significância de 0,01). O facto de o coeficiente ser positivo indica que quanto maior a idade do animal maior a probabilidade de originar uma cultura fúngica positiva.

Por outro lado, também é possível concluir que a variável “idade” é significativa relativamente ao “número de espécies fúngicas isoladas” em cada cultura (com um grau de significância de 0,1), sendo que, tal como observado em relação à variável dependente anterior, quanto maior a idade do animal maior a probabilidade das culturas apresentarem um maior número de espécies fúngicas; no entanto, a força da relação entre estas variáveis é inferior à força da relação entre “positividade na cultura micológica” e “idade”, como se pode concluir através da observação do grau de significância superior.

Vangeel et al. (2000), Hawkins e Bishop (2012), Hess e Tater (2012) e Kraemer et al. (2012b) referem que a dermatofitose ocorre mais frequentemente em coelhos e cobaios jovens devido a estes animais apresentarem um sistema imunitário incompletamente desenvolvido, bem como aos baixos níveis de ácidos gordos fungistáticos presentes na secreção sebácea. No primeiro estudo referido, os coelhos e cobaios positivos a *T. mentagrophytes* tinham menos de seis meses. No entanto, Drouot et al. (2009) afirmam no seu estudo que não existe predisposição de idade. A maior predisposição para dermatofitose em animais jovens foi também descrita em cães e gatos (Cabañes, 2000; Miller et al., 2013).

Apesar de não terem sido isolados dermatófitos a partir das amostras em estudo, foi encontrada evidência de que a idade é um fator significativo em relação à obtenção de uma cultura micológica positiva e de um maior número de espécies por cultura positiva. Os animais mais velhos podem sofrer de algumas afeções que dificultem comportamentos de limpeza, tais como doença dentária adquirida associada a dor oral, ou alterações musculoesqueléticas que reduzam a mobilidade e provoquem dor. Dado o aumento de longevidade do coelho, o diagnóstico de alterações musculoesqueléticas tem sido cada vez mais frequente. Estas alterações podem levar a dor e diminuição da atividade (Fisher & Carpenter,

2012), levando a uma possível dificuldade de executar movimentos corporais necessários para a limpeza. A doença dentária adquirida será posteriormente avaliada com mais detalhe.

7.3.5. Proveniência

A variável “proveniência” foi dividida em quatro categoriais: “loja de animais”, “criador”, “particular” e “adoção”. Na Tabela 22 encontram-se apresentadas a variável, as categorias e a frequência relativas de cada uma das categorias.

Tabela 22 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “proveniência”

Variável	Categoria	FR (%)
Proveniência	Loja de animais	66,10
	Criador	10,17
	Particular	19,49
	Adoção	4,24

Mais de metade dos animais teve origem em loja de animais (66,1%); outras origens incluem cedência por um particular (19,5%), tais como familiares ou amigos, aquisição a partir de um criador (10,2%) ou adoção a partir da rua ou instituições (4,2%).

Assim sendo, na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “proveniência” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “proveniência” corresponde a “adoção”.

Através da análise destas tabelas conclui-se que a variável “proveniência” é significativa na explicação da “positividade na cultura micológica” (com um grau de significância 0,05). Uma vez que o coeficiente da categoria “loja de animais” é positivo, pode concluir-se que há uma maior tendência para os animais com esta proveniência apresentarem culturas positivas do que os animais adotados (categoria de referência), assim como de as culturas realizadas a partir de amostras destes animais apresentarem uma maior tendência para a positividade relativamente a amostras de animais provenientes de um criador ou de um particular.

Por sua vez, a variável “proveniência” mostra-se também significativa para o “número de espécies fúngicas isoladas” a partir das amostras avaliadas (com um grau de significância 0,1). Sendo o coeficiente da categoria “criador” positivo, pode-se concluir que há tendência de que as amostras obtidas a partir dos animais com esta proveniência deem origem a culturas com um maior número de espécies fúngicas do que os animais adotados (categoria de referência), ou do que os animais provenientes de uma loja de animais ou de um particular. Num estudo de Overgaauw, van Avermaete, Mertens, Meijer e Schoemaker (2017), que investigou a prevalência de *T. mentagrophytes* e do ácaro *Cheyletiella parasitovorax* em coelhos e cobaios assintomáticos em lojas de animais na Alemanha, 3,8% (n= 213) das amostras colhidas a partir dos coelhos e 16,8% (n=179) das amostras colhidas a partir dos

cobaio foram positivas para *T. mentagrophytes*. Outro estudo, de Thomson, Monsalves, Maier e Silva (2015) realizado em Santiago do Chile, reporta também uma frequência de 7,7% de dermatófitos em cobaio de lojas de animais. Deste modo, o objetivo principal da investigação desta variável foi avaliar se, neste estudo, os animais provenientes de lojas de animais eram portadores de dermatófitos.

Apesar de ter sido encontrada evidência de relação entre as variáveis referidas, a interpretação desta relação carece de enquadramento. O facto de estas variáveis serem significativas poderá não ter grande significado visto a população em estudo incluir poucos animais recentemente adquiridos. Em Portugal ainda não foi realizado nenhum estudo semelhante; deste modo poderia ser interessante colher amostras de pelo de animais de lojas, criadores ou recentemente adquiridos de modo a pesquisar a presença de fungos dermatófitos e comparar com as frequências reportadas noutros países.

7.3.6. Doença dentária adquirida

Esta variável foi dividida em duas categorias: “presença” e “ausência”. Na Tabela 23 encontram-se apresentadas a variável, as categorias e a frequência relativa de cada uma das categorias.

Tabela 23 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “doença dentária adquirida”

Variável	Categoria	FR (%)
Doença dentária adquirida	Presença	32,20
	Ausência	67,80

Pode ser observado que 32,2% dos animais em estudo sofriam de doença dentária adquirida, sendo que 67,8% não sofriam desta afeção.

Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “doença dentária adquirida” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência desta variável corresponde a “ausência”.

Da análise das tabelas referidas conclui-se que não existe evidência estatística de que a variável “doença dentária adquirida” seja significativa, ou seja, que tenha relação com a “positividade na cultura micológica” nem com o “número de espécies fúngicas isoladas” a partir das amostras em estudo. Assim sendo, os resultados indicam que a “positividade na cultura micológica” e o “número de espécies fúngicas isoladas” a partir de uma amostra não são significativamente superiores nas amostras obtidas a partir de um animal que sofra de doença dentária adquirida em comparação com um animal que não sofra desta doença (categoria de referência), nem o inverso.

O estudo de Ovidio & Santoro (2013) descreveu uma forte relação entre doença dentária e doença dermatológica. A doença dentária é um dos problemas mais frequentemente

diagnosticados em coelhos de companhia, tendo sido já foi sugerido que pode ser uma causa subjacente a doença dermatológica (Lennox, 2008). No presente estudo, 32,2% apresenta doença dentária adquirida. As afeções dermatológicas mais reportadas em coelhos com doença dentária incluem dermatite da região perioral e membros anteriores, devido à hipersialia, alopecia e infeção bacteriana ou fúngica (Jekl, Hauptman & Knotek, 2008; d'Ovidio & Santoro, 2013).

Apesar de neste estudo não terem sido obtidos resultados positivos para dermatófitos, procurou-se avaliar se amostras obtidas a partir de um animal com doença dentária teriam maior probabilidade de dar origem a culturas micológicas positivas ou a culturas com um maior número de espécies fúngicas, visto que os animais com doença dentária podem exibir sialorreia, o que proporciona um ambiente húmido propício ao desenvolvimento fúngico; por outro lado, a autolimpeza permite a higiene do animal através da remoção de sujidade e parasitas (especialmente em animais selvagens), sendo que a saliva possui ação antibacteriana (Feusner et al., 2009). Quando a autolimpeza não é realizada tão eficazmente devido a dor oral, pode existir um desequilíbrio na microbiota cutânea do animal, permitindo o sobrecrecimento de fungos. Apesar de ser expectável que houvesse uma maior tendência para as amostras obtidas a partir dos animais que sofrem desta doença apresentarem uma maior tendência para a “positividade na cultura micológica” ou para um maior “número de espécies fúngicas isoladas” após cultura, esta não foi confirmada pelos resultados obtidos.

7.3.7. Contacto com outros animais

A variável “contacto com outros animais” foi dividida em seis categorias: “cão”, “gato”, “coelho”, “cobaio”, “chinchila” e “nenhum”. Na Tabela 24 encontra-se apresentada a variável “contacto com outros animais”, expondo-se as suas categorias e as respetivas frequências relativas.

Tabela 24 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “contacto com outros animais”

Variável	Categoria	FR (%)
Contacto com outros animais	Cão	1,96
	Gato	3,92
	Coelho	13,73
	Cobaio	25,49
	Chinchila	1,96
	Nenhum	52,94

Observou-se que aproximadamente metade (47,1%) dos coelhos e cobaios em estudo não convive com outros animais. Daqueles 52,9% que convivem, fazem-no com animais da própria espécie partilhando a mesma jaula, ou com animais de outra espécie.

Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “contacto com outros animais” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “contacto com outros animais” corresponde a “nenhum”.

Foi encontrada evidência estatística de que a variável “contacto com animais” é significativa na explicação da variável “número de espécies fúngicas isoladas” (com um grau de significância de 0,1). Dado que o coeficiente da categoria “cão” é positivo, o modelo indica que existe maior probabilidade de as amostras obtidas a partir de animais que contactam com cão originarem um maior número de espécies fúngicas relativamente a amostras obtidas a partir de coelhos ou cobaios que não contactem com nenhum outro animal (categoria de referência), assim como de originarem um maior o número de espécies fúngicas relativamente a amostras obtidas a partir de coelhos ou cobaios que contactem com as outras espécies.

Apesar de o modelo apresentar esta tendência, deve-se ter em conta que o número de observações na categoria “cão” é muito reduzido (1,96%), pelo que as conclusões devem ser tomadas com precaução. De facto as amostras colhidas a partir de animais que contactavam com “cão” resultaram no isolamento de um número elevado de espécies; no entanto, será precipitado concluir que existe uma relação entre estas variáveis dependentes e independentes dado o reduzido número de observações.

Esta informação foi recolhida para se poder avaliar, se tendo algum resultado positivo para a presença de dermatófitos, qual a origem da contaminação ou infeção. A determinação da espécie e a origem da infeção é importante uma vez que condicionam a abordagem ao problema. Se for isolado *M. canis* e se o animal contactar com gatos ou cães, é muito provável que uma destas espécies animais seja responsável pela contaminação, dado que é a espécie de dermatófito mais frequentemente isolado a partir de cão e gato (Miller et al., 2013). Deste modo, é importante fazer um exame clínico minucioso, incluindo um teste de Mackenzie, para determinar se o animal apresenta uma infeção assintomática ou se constitui um portador mecânico deste microrganismo, de modo a tomar-se as medidas de controlo necessárias. De outro modo, poderia constituir uma fonte de infeção recorrente para os coelhos e os cobaios que frequentam o mesmo ambiente (Viguié-Vallanet & Paugam, 2009). Van Cutsem, Van Gerven, Geerts & Rochette (1985) afirmam que muitas infeções em coelhos de explorações foram introduzidas por gatos, cães, roedores ou mesmo pelo Homem. Na Tabela 25 encontram-se referidas várias espécies de dermatófitos e respetivos portadores.

Tabela 25 – Espécies mais frequentes de dermatófitos zoofílicos e respetivos animais portadores
(adaptado de Viguié-Vallanet e Paugam, 2009)

Espécie	Animal portador
<i>M. canis</i>	Gato, cão, coelho, cobaio, ratazana
<i>M. nanum</i>	Porco
<i>M. equinum</i>	Cavalo
<i>T. mentagropytes</i>	Animais silvestres (ratazana, rato do campo, lebre, ouriço), ou domésticos (cobaio, cão, coelho), ovinos, bovinos, cavalo
<i>T. verrucosum (ochraceum)</i>	Bovinos, ovinos
<i>T. simii</i>	Animais silvestres

7.3.8. Higiene

A variável “banho” foi dividida em duas categorias: “sim” e “não”. Por sua vez, a variável “produto” refere-se ao produto com que são higienizados durante o banho e foi dividida em três categorias: “água”, “champô para roedores” e “sabão azul”. Na Tabela 26 encontram-se apresentadas as variáveis independentes, as categorias e as respectivas frequências relativas.

Tabela 26 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias das variáveis “banho” e “produto”, no total e por espécie

Variável	Categoria	FR (%)		
		Total	Coelho	Cobaio
Banho	Sim	27,45	3,13	68,42
	Não	72,55	96,88	31,58
Produto	Água	21,43	100,00	15,38
	Champô roedores	71,43	0,00	76,92
	Sabão azul	7,14	0,00	7,69

Cerca de um quarto (27,5%) dos animais eram lavados pelos tutores, sendo que a maioria destes pertenciam à espécie cobaio. A maioria (71,4%) utilizava champô para roedores; cerca de um quinto (21,4%) utilizava apenas água e uma minoria (7,14%) utilizava sabão azul.

Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “banho” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “banho” corresponde a “não”.

Os resultados indicam que não existe evidência estatística de que a variável “banho” seja significativa, ou seja, que tenha relação com a “positividade na cultura micológica” nem com o “número de espécies fúngicas isoladas”. Sendo assim, os resultados indicam que a “positividade na cultura micológica” e o “número de espécies fúngicas isoladas” não são significativamente superiores em amostras obtidas a partir de animais que tomem banho relativamente às obtidas a partir dos que não tomam (categoria de referência), nem o oposto. Não foi possível avaliar a relação entre a variável independente “produto” e as variáveis dependentes “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas” devido ao número reduzido de observações nestas categorias.

Os coelhos e cobaios têm a sua rotina de limpeza e não necessitam de tomar banho (Quesenberry et al., 2012; Vella & Donnelly, 2012). Assim sendo, esta variável foi avaliada uma vez que se colocam as hipóteses de que o banho poderia contribuir para a redução da contaminação do pelo, ou de que o excesso de higiene ou mau uso de produtos para a mesma poderia levar a problemas dermatológicos, tal como Donnelly et al. (2000) referem, nomeadamente infeção fúngica através de uma desregulação da microbiota comensal do

animal, do aumento de humidade e maceração cutânea; no entanto, não foi possível determinar esta relação.

7.3.9. Acesso ao exterior

A variável “acesso ao exterior” foi dividida em cinco categorias: “rua”, “quintal”, “jardim público”, “terraço” e “nenhum”. Na Tabela 27 encontram-se apresentadas a variável, as categorias e a frequência relativa de cada uma delas.

Tabela 27 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “acesso ao exterior”

Variável	Categoria	FR (%)
Acesso ao exterior	Rua	1,96
	Quintal	13,73
	Jardim público	3,92
	Terraço	1,96
	Nenhum	78,43

A maioria dos animais em estudo eram exclusivamente de interior (78,4%). Apenas 10 animais (21,6%) tinham acesso ocasional à rua, sendo que a maioria destes tinha acesso a um quintal (13,7%) e os restantes tinham acesso ao terraço, jardim público e rua pouco frequentemente. Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “acesso ao exterior” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “acesso ao exterior” corresponde a “nenhum”.

Os resultados demonstram que existe evidência estatística de que a variável “acesso ao exterior” é significativa na explicação da “positividade na cultura micológica” (com um grau de significância de 0,1). Sendo o coeficiente da categoria “jardim público” positivo, o modelo indica que existe maior probabilidade das amostras obtidas a partir de animais com acesso ao jardim público originarem culturas positivas relativamente às amostras provenientes de animais sem acesso à rua (categoria de referência) e às amostras obtidas de animais que tenham acesso ao terraço, à rua e quintal. Apesar do modelo apresentar esta tendência, deve-se ter em conta que o número de observações na categoria “jardim público” é reduzido (3,92%), logo as conclusões devem ser tomadas com precaução. De facto, as amostras colhidas a partir de animais que tinham acesso a um “jardim público” resultaram em culturas positivas; no entanto, será precipitado concluir que existe uma relação entre estas variáveis. Por outro lado, o modelo também indica que a variável “acesso ao exterior” é significativa na explicação do “número de espécies fúngicas isoladas”. Sendo os coeficientes das categorias “quintal” e “jardim público” positivos, podemos concluir que há uma maior probabilidade de que as amostras obtidas a partir de animais com acesso ao quintal e ao jardim público apresentem um maior número de espécies fúngicas do que as obtidas a partir de animais sem

acesso (categoria de referência), assim como relativamente a amostras colhidas a partir de animais que tenham acesso ao terraço e à rua.

Cabañes (2000) afirma que as espécies fúngicas presentes no pelo do gato podem variar em função do ambiente em que o animal vive (se vive em casa ou tem acesso à rua) e que os gatos que têm acesso à rua ou que aí vivem têm maior frequência de isolamento de dermatófitos. O jardim e quintal são locais onde existe solo, plantas e onde pode ocorrer contacto com outros animais ou resíduos por eles produzidos, sendo locais ricos em matéria orgânica e em matéria orgânica em decomposição, substrato de eleição dos fungos saprófitas.

7.3.10. Substrato da jaula

A variável “substrato” foi dividida em nove categorias: “papel prensado”, “madeira prensada”, “areia de gato”, “aparas de madeira”, “carolo de milho”, “resguardos”, “toalhas”, “cereais prensados” e “areia vegetal”. Por sua vez, a variável origem do substrato foi dividida em três categorias: “loja de animais”, “internet” e “supermercado”. Na Tabela 28 encontram-se apresentadas ambas as variáveis independentes, as categorias e a frequência relativa de cada uma das delas.

Tabela 28 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias das variáveis “substrato” e “origem do substrato”

Variável	Categoria	FR (%)
Substrato	Papel prensado	13,71
	Madeira prensada	54,90
	Areia de gato	3,92
	Aparas de madeira	19,61
	Carolo de milho	1,96
	Resguardos	1,96
	Toalhas	1,96
	Cereais prensados	1,96
	Areia vegetal	1,96

Pode ser observado que ligeiramente mais de metade dos tutores disponibiliza como substrato madeira prensada (54,9%), seguido de aparas de madeira (19,6%) e papel prensado (13,7%); por fim, outros substratos variados são utilizados apenas pontualmente.

Pode ainda ser notado que a maioria dos inquiridos adquire o substrato no supermercado (53,5%), seguido da loja de animais (29,3%) e internet (17,2%).

Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância das variáveis “substrato” e “origem do substrato” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “substrato” corresponde a “aparas de madeira” e a categoria de referência da variável “origem do substrato” corresponde a “internet”.

Em primeiro lugar, através da análise da Tabela 42 é possível concluir que a variável “substrato” é significativa para a explicação da “positividade na cultura micológica” (com um

grau de significância de 0,1). Dado que o coeficiente da categoria “toalhas” é negativo, conclui-se que as amostras obtidas a partir dos animais que vivem sobre este substrato têm menor probabilidade de originar culturas positivas após cultura do que as amostras obtidas a partir dos animais que vivem sobre aparas de madeira (categoria de referência), assim como em relação às amostras obtidas a partir dos animais que contactam com os restantes substratos. Por sua vez, a variável “substrato” mostra-se significativa para a explicação do “número de espécies fúngicas isoladas” (com um grau de significância 0,05). Sendo o coeficiente da categoria “cereais prensados” negativo, pode-se concluir que existe a tendência de as culturas realizadas a partir de animais com este substrato apresentarem um menor número de espécies fúngicas do que as realizadas a partir de animais com substrato de aparas de madeira (categoria de referência), assim como em relação às amostras obtidas a partir dos animais que contactem com os restantes substratos. Apesar do modelo apresentar esta tendência, deve-se ter em conta que o número de observações em cada uma destas categorias é muito reduzido (com 1,96% das observações para cada uma delas), pelo que as conclusões devem ser tomadas com precaução. De facto, não foram obtidas culturas positivas a partir das amostras colhidas dos animais que contactavam com este tipo de substratos; no entanto, será precipitado concluir que existe uma relação entre estas variáveis.

Por fim, em relação à variável “origem do substrato”, os valores indicam que não existe evidência de que esta variável seja significativa, ou seja, que tenha relação com a “positividade na cultura micológica” nem com o “número de espécies fúngicas isoladas”, sendo que a “positividade na cultura micológica” e o “número de espécies fúngicas isoladas” não são significativamente superiores em amostras obtidas a partir de animais que contactem com substratos comprados no supermercado ou loja de animais em relação às amostras obtidas a partir dos que contactem com substratos comprados na internet, nem o oposto.

Cabañes (2000) afirma que a pele e o pelo do gato apresentam uma microbiota semelhante à do ambiente em redor, o que poderá ser extrapolado para o coelho e cobaio. Tal como previamente referido, a jaula do coelho e do cobaio deve conter um substrato adequado e absorvente, tal como palha, feno, papel desfiado ou prensado, e é muito importante que seja limpo diariamente ou trocado quando húmido (Hillyer, 1994; Hoppmann & Barron, 2007a; Vella & Donnelly, 2012). Uma vez que todos estes substratos são constituídos por matéria orgânica, a sua degradação em consequência do contacto com dejetos, água e restos de alimento pode potenciar o desenvolvimento de uma maior quantidade de fungos no ambiente. De igual modo, a origem do substrato, que poderá eventualmente estar relacionada com qualidade do mesmo, poderia ter alguma influência no desenvolvimento fúngico; no entanto, estas hipóteses não foram confirmadas pelos resultados.

7.3.11. Alimento

A variável “alimento” foi dividida em quatro categorias: “ração”, “feno”, “fruta” e “vegetais”. Por sua vez, a variável “ração” foi dividida em duas categorias: “muesli” ou “*pellets*”. Por fim, a variável “origem do substrato” foi dividida em três categorias: “loja de animais”, “supermercado” e “internet”. Na Tabela 29 encontram-se apresentadas as variáveis, as categorias e as frequências relativas das mesmas.

Tabela 29 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias das variáveis “alimento”, “ração” e “origem do alimento”

Variável	Categoria	FR (%)
Alimento	Ração	96,08
	Feno	94,12
	Vegetais	86,27
	Fruta	74,51
	Pão	1,96
	Bolachas	1,96
Ração	Muesli	66,00
	<i>Pellets</i>	34,00
Origem do alimento	Loja de animais	43,14
	Supermercado	37,25
	Internet	19,61

A maior parte dos animais incluídos neste estudo eram alimentados com ração (96,1%) e feno (94,1%), sendo que a grande maioria tinha acesso a vegetais (86,3%) e fruta (74,5%), existindo apenas um animal a comer pão (1,96%) e bolachas (1,96%). Ainda, a ração da maioria dos animais em estudo era fornecida na forma de muesli (66,0%) comparativamente a *pellets* (44,0%). Pode ainda ser notado que o alimento é comprado com maior frequência em lojas de animais (43,1%), seguido do supermercado (37,3%) e da internet (19,6%).

Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância das variáveis “alimento”, “ração” e “origem do alimento” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “alimento” corresponde a “bolachas”; por sua vez, a categoria de referência da variável “ração” corresponde a “muesli”; por fim, a categoria de referência da variável “origem do alimento” corresponde a “internet”.

Os valores-p relativos às variáveis independentes “alimento”, “ração” e “origem do alimento” indicam que não existe evidência estatística de que estas variáveis sejam significativas na explicação da variação da “positividade na cultura micológica” nem do “número de espécies fúngicas isoladas”. No entanto, a hipótese formulada foi semelhante à anterior, de que o alimento e a ração encontrada na jaula poderiam influenciar o crescimento fúngico, pois são constituídos por matéria orgânica de diversas origens. Já Scott et al. (2001) descreveram no seu estudo que coelhos jovens desenvolveram aspergilose devido a feno contaminado.

7.3.12. Medicação

A variável “medicação” foi dividida em oito categorias: “anti-inflamatório”, “antiparasitário”, “antibiótico”, “antifúngico”, “analgésico”, “vitaminas”, “probióticos” e “pró-cinético”. Na Tabela 30 encontram-se apresentadas a variável, as categorias e as suas frequências relativas.

Tabela 30 – Frequência Relativa (FR) de cada uma das categorias da variável “medicação”

Variável	Categoria	FR (%)
Medicação	Anti-inflamatório	11,76
	Antiparasitário	7,84
	Antibiótico	13,73
	Antifúngico	3,92
	Analgésico	3,92
	Vitaminas	1,96
	Probióticos	1,96
	Pró-cinético	1,96
	Nenhuma	52,95

Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “medicação” para a explicação das variáveis de “interesse positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “medicação” corresponde a “nenhuma”.

Os resultados demonstram que existe evidência estatística de que a variável “medicação” é significativa na explicação da “positividade na cultura micológica”. Sendo os coeficientes das categorias “anti-inflamatório”, “antiparasitário” e “antibiótico” positivos, podemos concluir que há uma maior tendência de que as amostras colhidas a partir de animais que estejam a tomar estas medicações apresentem culturas positivas relativamente às amostras colhidas a partir de animais que não estejam a tomar nenhuma medicação (categoria de referência) ou que estejam a tomar as restantes medicações. Por outro lado, sendo o coeficiente da categoria “vitaminas” negativo, os resultados indicam que as amostras colhidas a partir dos animais que estejam a tomar vitaminas têm menor probabilidade de originar um resultado positivo na cultura micológica relativamente às amostra colhidas a partir dos animais que não estejam a tomar nenhuma medicação (categoria de referência) ou as restantes medicações; no entanto, dado o reduzido número de observações na categoria “vitaminas” (1,96%), as conclusões devem ser tomadas com precaução. De facto as amostras colhidas a partir de animais que tomavam “vitaminas” resultaram em culturas fúngicas negativas; no entanto, será precipitado concluir que existe menor tendência de que as amostras provenientes dos animais que tomam esta medicação resultem em culturas micológicas positivas relativamente às dos animais que não tomam.

Em segundo lugar, também é possível concluir que a variável “medicação” é significativa na explicação do “número de espécies fúngicas isoladas”. Sendo os coeficientes das categorias “antiparasitário”, “antibiótico” e “antifúngico” positivos, podemos concluir que há uma

tendência de que as amostras obtidas a partir de animais sujeitos a esta medicação originem um maior número de espécies fúngicas após cultura do que as amostras obtidas a partir de animais que não estão sujeitos a nenhuma medicação (categoria de referência).

Quinn et al. (2011) afirmam que a terapêutica antimicrobiana prolongada pode alterar a microbiota comensal das superfícies mucosas e facilitar a proliferação de leveduras. Neste estudo não foi possível encontrar uma relação entre a “medicação” com a “positividade na cultura micológica” apenas para leveduras ou com o “número de espécies fúngicas” leveduriformes presentes nas amostras positivas, devido ao reduzido número de amostras positivas para leveduras. Apenas 2 das 13 culturas positivas para leveduras tiveram origem em animais sujeitos a terapêutica antibiótica; no entanto, foi encontrada relação entre a presença de fungos (filamentosos e leveduriformes) e a medicação administrada, na medida em que os animais sujeitos a terapêutica com antibiótico apresentavam maior probabilidade de originar “positividade na cultura micológica” e maior “número de espécies fúngicas isoladas” relativamente aos animais que não estavam sujeitos a nenhuma terapêutica. Os animais que estavam sujeitos a terapêutica antibiótica eram animais com doença dentária grave, associada ou não a abscesso, e um animal com infeção respiratória; logo, eram animais debilitados que poderiam ter maior dificuldade em realizar a sua limpeza. Vários autores referem ainda que a microbiota da pele e pelo pode variar de acordo com o estado imunitário. Cabañes (2000) descreveu este fenómeno no pelo do gato, enquanto Mancianti, Giannelli, Bendinelli e Poli (1992) reportaram uma frequência de *M. canis* superior no pelo de gatos infetados com Vírus da Imunodeficiência Felina do que em animais sem esta afeção.

Para além disso, os animais sujeitos às medicações relacionadas com uma maior probabilidade de apresentarem culturas positivas e um maior número de espécies fúngicas eram animais com um estado de saúde debilitado, dividindo-se sobretudo em duas situações: doença dentária em estado avançado e presença de sinais neurológicos compatível com *Encephalitozoon cuniculi*. Estas duas situações geralmente promovem uma diminuição de condição corporal, um estado nutricional deficiente e um grau de atividade alterado, o que pode explicar a relação entre as variáveis dependentes e a medicação administrada.

7.4. Comparação entre meios de cultura

A variável “meio de cultura” foi dividida em duas categorias: “SCA” e “DTM”. Na Tabela 31 encontram-se apresentadas esta variável, as categorias da mesma, a frequência absoluta e relativa de cada uma delas, dos resultados positivos e negativos obtidos e dos resultados falsos-positivos considerando o meio SCA como referência.

Tabela 31 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) do número de culturas negativas e positivas de acordo com o método de colheita e dos falsos-positivos

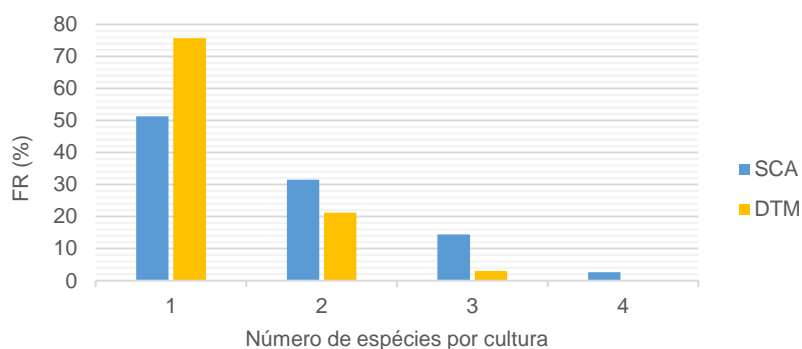
Variável	Categoria	FA	FR (%)	Resultado	FA	FR (%)	Falsos-positivos	
							FA	FR (%)

Meio de cultura	SCA	169	50,00	Negativo	54	31,95	12	24,49
				Positivo	115	68,05		
	DTM	169	50,00	Negativo	121	71,60		
				Positivo	48	28,40		

Foram realizadas 169 culturas em meio SCA, das quais 54 (n=169; 31,95%) apresentaram-se negativas após incubação e 115 (n=169; 68,05%) positivas. Por sua vez, foram realizadas 169 culturas em meio DTM, apresentando-se 121 (n=169; 71,6%) culturas negativas após incubação e 48 (n=169; 28,4%) culturas positivas.

Relativamente ao número de espécies fúngicas, o Gráfico 7 ilustra o número de espécies fúngicas isoladas nas culturas positivas de acordo com o meio de cultura.

Gráfico 7 – Frequência Relativa (FR) do número de espécies fúngicas isoladas nas culturas positivas de acordo com o meio de cultura



Em SCA o número de espécies fúngicas isoladas nas culturas positivas variou entre 1 e 4 e a moda foi 1. Em DTM o número de espécies fúngicas obtidas a partir das culturas positivas variou entre 1 e 3 e a moda foi 1. No Gráfico 7 também parece claro que as culturas em meio SCA apresentam um maior número de espécies fúngicas. Seguidamente foi avaliado se esta diferença entre os meios de cultura é estatisticamente significativa. Para tal, foi avaliado se existe relação entre as variáveis dependentes “positividade na cultura micológica” e o “número de espécies fúngicas isoladas” após cultura e a variável independente “meio de cultura”. Assim sendo, na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “meio de cultura” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “meio de cultura” corresponde a “DTM”.

Os resultados indicam que existe evidência estatística de que a variável “meio de cultura” é significativa (com um grau de significância de 0,001) na explicação da “positividade na cultura micológica” e do “número de espécies fúngicas isoladas”. Uma vez que o coeficiente para a categoria “SCA” é positivo, pode ser concluído que há uma maior probabilidade de as amostras cultivadas em SCA originarem culturas positivas, assim como um maior número de espécies fúngicas do que as cultivadas em DTM (categoria de referência).

Estes resultados são concordantes com a maior seletividade do meio DTM face ao meio SCA devido à sua composição. Enquanto o SCA é um meio que contém apenas um antibiótico, o cloranfenicol, o DTM contém ainda cicloheximida, um antibiótico com propriedades antifúngicas que inibe alguns fungos saprófitas de crescimento rápido (Taplin et al., 1969; Songer & Post, 2005). Na Tabela 32 podem observar-se as espécies fúngicas isoladas nos diferentes meios de cultura e a frequência com que provocaram alteração no meio de cultura.

Tabela 32 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das diferentes espécies fúngicas nos diferentes meios de cultura e da alteração da cor do meio relativamente a cada espécie fúngica

Espécie	SCA		DTM		Alteração cor meio	
	FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)
<i>Alternaria</i> sp.	10	5,24	1	1,85	1	6,25
<i>Aspergillus</i> sp.	56	29,32	13	24,07	5	31,25
<i>Chaetomium</i> sp.	2	1,05	0	0,00	0	0,00
<i>Candida</i> sp.	4	2,09	7	12,96	0	0,00
<i>Cladosporium</i> sp.	10	5,24	1	1,85	0	0,00
<i>Mucor</i> sp.	14	7,33	0	0,00	0	0,00
<i>Penicillium</i> sp.	26	13,61	13	24,07	2	12,5
<i>Phoma</i> sp.	2	1,05	0	0,00	0	0,00
<i>Rhizopus</i> sp.	15	7,85	1	1,85	0	0,00
<i>Rhodotorula</i> sp.	2	1,05	0	0,00	0	0,00
<i>Scopulariopsis</i> sp.	26	13,61	13	24,07	6	37,5
Fungos filamentosos não identificados	24	12,57	5	9,26	2	12,5
Total	191	100,00	54	100,00	16	100,00

Pode ser observado que todas as espécies fúngicas cresceram em SCA; no entanto, *Chaetomium* sp., *Mucor* sp., *Phoma* sp. e *Rhodotorula* sp. não cresceram em DTM, apenas em SCA. Relativamente à alteração da cor do meio, *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Scopulariopsis* sp. e dois fungos não determinados promoveram a sua alteração.

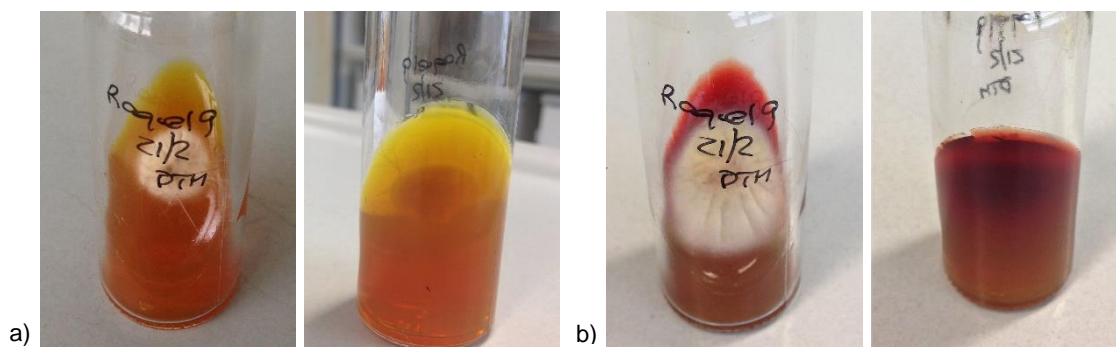
O DTM é um meio desenvolvido por Taplin et al., (1969) especificamente para a cultura de fungos dermatófitos, de modo a ser possível um diagnóstico mais rápido e acessível por técnicos que não tenham conhecimentos aprofundados relativamente à morfologia macro e microscópica micológica, revelando a presença destes fungos nas amostras através da mudança de cor do meio de laranja a vermelho. No entanto, os resultados obtidos a partir amostras provenientes do solo, muito contaminadas ou recolhidas de pés ou unhas requerem uma interpretação cuidada (Taplin et al., 1969).

Relativamente à alteração da cor do meio, neste estudo foi observado em 12 culturas em DTM, ou seja, em 24,5% das culturas positivas. Em algumas situações, a alteração da cor não ocorreu na totalidade do meio, mas foi observada em redor de pelo menos uma das colónias. Dado que não foi possível isolar fungos dermatófitos a partir das amostras em estudo, a interpretação dos resultados das culturas baseada apenas na alteração da cor do meio daria origem a resultados falsos-positivos. A Figura 18 apresenta uma situação em que ocorreu alteração da cor do meio.

Figura 18 – Alteração da cor do meio DTM após incubação de uma amostra de pelo de coelho:

a) Superfície e reverso da cultura após 8 dias de incubação;

b) Superfície e reverso da cultura após 13 dias de incubação (Originais)



No estudo de Taplin et al. (1969) é referido que 97% das culturas poderiam ser identificadas apenas pela mudança na cor do meio, ou seja, aponta para uma especificidade de 97%, e afirmando ainda que apenas 3% das culturas em que se observou alteração de cor não corresponderam a fungos dermatófitos. Salkin (1973) e Li et al. (2009) demonstraram que neste meio não crescem apenas fungos dermatófitos, mas também muitos outros fungos saprófitas resistentes à cicloheximida, sendo que muitos destes são capazes de provocar alteração na cor do meio.

Taplin et al. (1969) afirmaram também que a alteração da cor do meio não causada por dermatófitos ocorre em consequência de produção de metabolitos alcalinos por parte de bactérias, leveduras ou fungos saprófitas. No presente estudo não foram visualizadas bactérias, o que seria de esperar tendo em conta que ambos os meios utilizados, tanto o SCA como o DTM, contêm antibiótico. As amostras da pele, pelo e unhas vêm naturalmente contaminadas com diversas espécies bacterianas, devendo ser sempre cultivadas num meio que contenha antibiótico (Fisher & Cook, 1998).

Neste estudo foi observado o crescimento de leveduras em 7 culturas (n=48; 14,6%) realizadas em DTM; no entanto, em nenhuma destas culturas foi observada alteração da cor do meio. Nas culturas em que ocorreu alteração da cor do meio os fungos identificados responsáveis foram espécies saprófitas já referidas anteriormente. De facto, *Acremonium falciforme*, *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Blastomyces dermatitidis*, *Chrysosporium* sp., *Cladosporium* sp., *Coccidioides immitis*, *Fusarium falciforme*, *Histoplasma capsulatum*, *Penicillium* sp., *Pseudallescheria boydii*, *Scedosporium apiospermum*, *Scopulariopsis* sp. e *Sporothrix schenckii* podem causar alteração do meio, por isso a confirmação da identificação através da microscopia é essencial (Taplin et al., 1969; Salkin, 1973; Salkin, Padhye & Kemna, 1997; Miller et al., 2013).

De modo a evitar resultados falsos-positivos, Miller et al. (2013) afirmaram que as culturas devem ser visualizadas diariamente, pois uma correta interpretação dos resultados obtidos implica o reconhecimento da mudança da cor do meio concomitantemente com crescimento

de micélio visível. Os fungos dermatófitos metabolizam em primeiro lugar a proteína do meio, originando metabolitos alcalinos em consequência da digestão de aminoácidos que leva a produção de amónia (Goldfarb & Herrmann, 1956) e que provocam a alteração da respetiva cor. Apenas depois do esgotamento da proteína começam a metabolizar os hidratos de carbono. Pelo contrário, a maioria dos outros fungos metabolizam os hidratos de carbono em primeiro lugar e só depois as proteínas. Assim sendo, os dermatófitos promovem a mudança da cor do meio assim que a colónia se começa a desenvolver, enquanto que com as espécies saprófitas, apesar de poderem também provocar a alteração da cor do meio, essa alteração ocorre geralmente alguns dias após o desenvolvimento da colónia (Li et al., 2009; Miller et al., 2013). Deste modo, para a interpretação correta dos resultados obtidos neste meio é necessário que as colónias visualizadas diariamente (Miller et al., 2013). No presente estudo, apesar de terem existido 12 culturas em que ocorreu alteração da cor do meio, o intervalo entre o dia de início da incubação e o dia em que ocorreu alteração da cor do meio variou entre 5 a 11 dias, o que parece indicar que não correspondiam a colónias de dermatófitos, que alterariam a cor do meio precocemente.

Para além de já terem sido reportadas várias situações em que fungos não dermatófitos alteraram a cor do meio, também já foram descritas situações em que o crescimento de *M. canis* não provocou a alteração na cor do meio DTM para vermelho. Além disso, nestas situações a morfologia das colónias era diferente à das colónias típicas de *M. canis*. Estas colónias atípicas apresentam crescimento mais lento e micélio menos aéreo e algodinoso, tendo sido, no entanto, identificadas microscopicamente como *M. canis*. Neste estudo de Moriello e Deboer (1991) o tempo desde a inoculação do meio até à identificação positiva de colónias de *M. canis* variou entre 4 a 18 dias, com uma média de 8 dias, sendo que as amostras provenientes de animais assintomáticos requereram maior tempo de incubação do que as obtidas a partir de animais com lesões, provavelmente devido à carga fúngica inferior. No presente estudo, mais de metade dos isolados de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. em DTM apresentaram semelhanças com os dermatófitos devido às colónias brancas ou claras e alteração da cor do meio, tal como se pode observar na Figura 18, que corresponde a uma cultura de *Penicillium* sp. em DTM.

Além disso, os constituintes do meio DTM podem inibir ou reduzir o desenvolvimento de conídios, alterar a pigmentação da colónia e inibir o crescimento de alguns fungos patogénicos (organismos sensíveis à cicloheximida, tais como *C. neoformans*, membros do subfilo Mucoromycotina, algumas espécies de *Candida*, *Aspergillus*, *P. boydii* e muitos agentes de feohifomicose) (Aly, 1994; Miller et al., 2013). Por fim, é importante referir que as colónias em DTM não exibem a sua pigmentação normal, sendo mais difícil de descrever a morfologia macroscópica que, por vezes, auxilia a identificação da espécie isolada. De facto, Taplin et al. (1969) afirmaram que para avaliar a normal pigmentação do fungo não deve ser utilizado este

meio. Assim sendo, é necessário reforçar a importância de realizar uma cultura paralela num meio menos seletivo (Miller et al., 2013), como o SCA.

Assim, pode-se concluir que existem várias espécies não dermatofíticas que podem crescer em DTM e que podem induzir uma alteração na cor do meio, que pode induzir um diagnóstico incorreto de dermatófitos se este for realizado apenas com base na morfologia da colônia e na cor do meio. Para além disso, podem não produzir alteração na cor do meio, demonstrando que este meio de cultura não é completamente sensível nem específico para estes fungos e que o diagnóstico laboratorial não pode apenas basear-se numa observação macroscópica da colônia nem da alteração do meio de cultura.

7.5. Comparação entre métodos de colheita

Para realizar esta comparação apenas são utilizados os dados relativos às amostras recolhidas em Lisboa, pois apenas neste local foram utilizados ambos os métodos (arrancamento com pinça e método de Mackenzie). A variável método de colheita possui então duas categorias: “pinça” e “escova” (assim denominadas para simplificação da explicação). Na Tabela 33 encontram-se apresentadas a variável “método de colheita”, as respetivas categorias, a frequência absoluta e relativa de cada uma delas e dos resultados positivos e negativos.

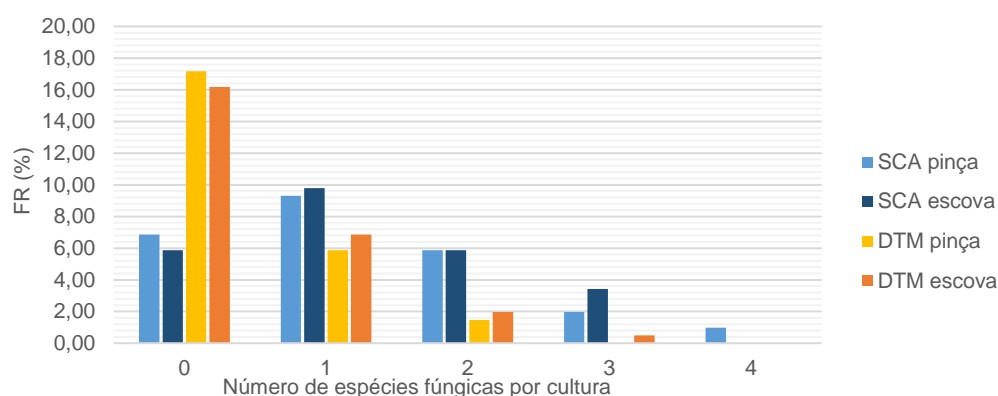
Tabela 33 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) do número de culturas negativas e positivas de acordo com o método de colheita

Variável	Categoria	FA	FR (%)	Resultado	FA	FR (%)
Método de colheita	Pinça	102	50,00	Negativo	49	48,04
				Positivo	53	51,96
	Escova	102	50,00	Negativo	45	44,12
				Positivo	57	55,88

O método de arrancamento de pelos com pinça e o método adaptado de Mackenzie foram utilizados para a recolha de amostras, inoculadas simultaneamente em SCA e em DTM. As amostras colhidas com a pinça deram origem a 49 (n=102; 48,0%) culturas negativas e 53 (n=102; 52,0%) culturas positivas, enquanto que as amostras colhidas com a escova deram origem a 45 (n=102; 44,1%) culturas negativas e 57 (n=102; 55,9%) culturas positivas, como pode observar-se na Tabela 33.

O Gráfico 8 ilustra o número de espécies fúngicas isoladas a partir das amostras de acordo com o método de colheita e com o meio de cultura.

Gráfico 8 – Frequência Relativa (FR) do número de espécies fúngicas isoladas nas culturas positivas de acordo com o método de colheita



Nas culturas positivas correspondentes às amostras obtidas através do método “pinça”, o número de espécies fúngicas variou entre 1 e 4 e a moda foi 1. Com o método “escova”, o número de fungos isolados a partir de uma cultura positiva variou entre 1 e 3 e a moda foi 1. Observando a Tabela 33 verifica-se um ligeiro acréscimo dos resultados positivos em amostras obtidas através do método de colheita “escova” comparativamente com “pinça”. Por sua vez, no Gráfico 8 é possível visualizar novamente que o número de resultados positivos é superior quando aplicado o método “escova” para colheita de amostra, em ambos os meios de cultura. Relativamente ao número de espécies fúngicas isoladas, as culturas realizadas a partir das amostras colhidas através do método “escova” tendem a resultar num maior número de espécies. Existe apenas uma ocasião em que o número de espécies fúngicas isoladas em culturas realizadas a partir de amostras colhidas com pinça (4 espécies) é superior relativamente ao número de espécies fúngicas isoladas a partir de culturas realizadas a partir de amostras colhidas com escova. No entanto, é necessário averiguar se existe evidência estatística desta relação entre os métodos de colheita e os resultados das culturas micológicas. Na Tabela 42 e na Tabela 43 são apresentados os resultados da significância da variável “método de colheita” para a explicação das variáveis de interesse “positividade na cultura micológica” e “número de espécies fúngicas isoladas”, respetivamente. A categoria de referência da variável “método de colheita” corresponde a “escova”.

Os resultados indicam que existe evidência estatística entre a variável “método de colheita” é significativa (com um grau de significância de 0,01) na explicação do “número de espécies fúngicas isoladas” nas culturas positivas. Uma vez que o coeficiente para a categoria “pinça” é negativo, pode-se concluir que existe a tendência de que as amostras obtidas pelo método “pinça” originem culturas com um número de espécies fúngicas inferior às amostras obtidas pelo método “escova” (categoria de referência), ou seja, que as amostras colhidas através do método “escova” têm a tendência de originar culturas com um maior número de espécies fúngicas isoladas nas culturas positivas.

O método da escovagem foi desenvolvido por Mackenzie precisamente para detetar a presença de dermatófitos em humanos assintomáticos quando outros métodos não o conseguiam realizar (Mackenzie, 1963). Apesar de não ter sido possível obter nenhum resultado positivo para dermatófitos, este método foi aplicado tendo como objetivo verificar se existiam realmente animais portadores assintomáticos deste agente. Culturas positivas para dermatófitos realizadas a partir de animais que não apresentam lesões visíveis podem ocorrer em duas situações: ou existe infeção ativa associada a lesões de pequenas dimensões que não são visíveis num exame clínico de rotina (aparente infeção assintomática) ou são portadores mecânicos transitórios destes microrganismos, em que existem artrosporos e hifas na pelagem com origem noutro animal infetado ou em ambientes contaminados (Mignon & Losson, 1997; Miller et al., 2013). Moriello, Coyner, Paterson e Mignon (2017) afirmam também que a quantificação de colónias de *M. canis* após cultura é um parâmetro importante para distinguir entre animais apenas portadores de animais com infeção, sendo também útil para monitorizar o curso da infeção.

Sendo que a técnica de Mackenzie aumenta a probabilidade de deteção de pequenas quantidades de esporos de dermatófitos, apesar de não terem sido obtidos resultados positivos para estes agentes seria expectável que este método permitisse isolar uma maior quantidade de fungos a partir das amostras, pois este método aumenta a captação de elementos fúngicos ao longo de todo o animal. As amostras colhidas com método de arrancamento de pelos com a pinça foram obtidas a partir do local da lesão (se sintomático) e ao longo do corpo (se assintomático); no entanto, a superfície corporal abrangida por este método não é tão grande como quando se recorre ao método de Mackenzie, sendo expectável que se isolem menos espécies fúngicas a partir de amostras recolhidas com “pinça”.

Apesar de algumas fontes bibliográficas referirem que a escova de dentes utilizada para a recolha de amostras deve ser impressa no meio (Mackenzie, 1963; Moriello, 2001; Moriello & Newbury, 2006; Chermette, Ferreiro & Guillot, 2008), neste estudo não foi possível realizar este procedimento porque as culturas foram realizadas em frasco, o que impedia o contacto da escova com o meio. Num estudo recente de Di Mattia, Fondati, Monaco, Pasquetti e Peano (2018), realizado com o objetivo de comparar duas técnicas de inoculação de amostras colhidas a partir do método de Mackenzie, a primeira técnica consistiu em pressionar a escova de dentes no meio de cultura e a segunda consistiu em pressionar igualmente a escova de dentes no meio mas também transferir os pelos e escamas presos nas fibras da escova para o meio, avaliando deste modo se a transferência de pelos aumenta a probabilidade de obter resultados positivos para dermatófitos. Neste estudo de Di Mattia et al. (2018) os autores concluíram que a forma como a amostra é inoculada tem grande influência no resultado da cultura, sendo que a transferência do material da escova para o meio permitia o diagnóstico de *M. canis* em apenas 33% dos casos. Pelo contrário, apenas com a impressão da escova no meio, o resultado aumentava para 95%. As culturas resultaram positivas mesmo quando

não se transferiu o material preso na escova pois fragmentos muito pequenos, escamas, e conídios podem ser transferidos das fibras para o agar através deste método. Os autores referem ainda que as placas nas quais era inoculado muito material eram frequentemente invadidas por fungos não dermatófitos que cresciam rapidamente, ocupando o espaço disponível na placa, daí resultando uma menor percentagem de diagnóstico. Assim sendo, a técnica de impressão do meio utilizada isoladamente permitia uma redução da contaminação por fungos não dermatófitos, o que facilitava a deteção de colónias positivas a dermatófitos, permitindo a visualização das colónias e posterior confirmação microscópica. Dado que a determinação do número de colónias é um parâmetro importante para distinguir entre animais que sejam apenas portadores de animais com infeção ativa, sendo também útil para monitorizar o curso da infeção (Moriello et al., 2017), conclui-se que o excesso de contaminação da cultura é muito prejudicial para a identificação de animais com infeção e, principalmente, da distinção de animais portadores.

No nosso estudo foi realizado apenas sementeira através da transferência de material para o agar, tendo-se observado um nível de contaminação elevado. Apesar de não ser possível excluir a hipótese de que as colónias de fungos dermatófitos tenham sido sobrepostas por colónias de fungos ambientais que apresentam uma taxa de crescimento mais rápida (Tabela 6, pp. 26), esta é pouco provável devido ao facto de se terem realizado culturas paralelas em DTM, o que reforça a importância de realizar culturas de forma paralela (Miller et al., 2013).

8. Conclusão

De que a estudante tenha conhecimento, este é o primeiro estudo de caracterização da micobiota da pele e pelo e de investigação da frequência de fungos dermatófitos em coelhos e cobaias de companhia em Portugal.

Neste estudo a micobiota da pele e pelo destes animais revelou ser constituída maioritariamente por fungos ambientais, tal como acontece com muitas outras espécies animais, tais como o cão e gato. Foram isoladas diversas espécies de fungos filamentosos (*Aspergillus* spp., *Scopulariopsis* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* sp., *Mucor* spp., *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp. e *Phoma* sp., por ordem de frequência), bem como fungos leveduriformes (*Candida* sp. e *Rhodotorula* sp.). Apesar de os coelhos e cobaias já terem sido referenciados como possíveis portadores assintomáticos de dermatófitos, não foi possível isolar estes agentes a partir das amostras em estudo, concluindo-se que, nas populações analisadas, os animais não eram portadores de fungos dermatófitos.

Todos os fungos filamentosos identificados correspondem a espécies saprófitas, presentes no ambiente e em matéria orgânica em decomposição; por sua vez, os fungos leveduriformes podem pertencer à micobiota normal dos animais (*Candida* sp.) ou também do ambiente (*Rhodotorula* sp.). Neste estudo foi reportada pela primeira vez a presença de *Chaetomium* sp., *Phoma* sp. e *Rhodotorula* sp. a partir do pelo destes animais.

A presença das espécies fúngicas identificadas no presente estudo já foi reportada no pelo de outros animais domésticos saudáveis, como cão e gato, e já foram também reportadas como causadoras de infeções em animais e humanos.

No presente estudo, as espécies fúngicas identificadas a partir de animais com sinais clínicos particularmente suspeitos de dermatofitose, com lesões alopecia e lesões crostosas, foram *Candida* sp. e *Scopulariopsis* sp..

Relativamente à análise de regressão realizada, foi avaliada a relação entre diversas variáveis referentes à caracterização/maneio dos animais (variáveis independentes) e o número de culturas positivas/número de espécies fúngicas isoladas nas culturas positiva (variáveis dependentes). Foi possível observar que as variáveis “espécie”, “idade” e “medicação” a que o animal está sujeito revelaram-se significativas relativamente à variação da variável de interesse “positividade na cultura micológica”, ou seja, que a obtenção de resultados positivos na cultura micológica tem tendência a variar de acordo com estas variáveis. Foi ainda possível concluir que a “idade”, o “acesso ao exterior” e a “medicação” a que o animal está sujeito revelaram-se significativas relativamente à variação da variável de interesse “número de espécies fúngicas isoladas” a partir das culturas positivas. Sugere-se a realização desta mesma análise utilizando a variável dependente “presença de fungos dermatófitos”, que não foi possível realizar no presente estudo dado que não foram isolados estes agentes.

Verificou-se ainda que o “meio de cultura” se encontra relacionado com a “positividade na cultura micológica” e com o “número de espécies fúngicas isoladas” nas culturas positivas,

sendo que existe a tendência de que no meio SCA haja maior probabilidade de obtenção de culturas positivas e de um maior número de espécies fúngicas por amostra positiva do que o meio DTM. Apesar de ser um meio especialmente desenvolvido para um diagnóstico rápido de fungos dermatófitos baseado na alteração na cor do meio promovida por estes agentes, neste estudo foram encontradas algumas situações em que ocorreu alteração da cor do meio devido à presença de fungos não dermatófitos.

Por fim, o “método de colheita” de amostra encontra-se relacionado com o “número de espécies fúngicas isoladas” nas amostras positivas, concluindo-se que existe a tendência de que a partir das amostras recolhidas através do método de Mackenzie sejam isoladas mais espécies fúngicas do que a partir das amostras obtidas através do arrancamento de pelos com pinça; no entanto, é importante referir que a obtenção de amostras através desta técnica pode dificultar o isolamento de fungos dermatófitos devido à elevada contaminação com organismos saprófitas, sendo por isso aconselhado realizar apenas a impressão do meio com a escova e não a transferência total do material. Sugere-se a realização de um estudo futuro em que se realize a recolha de amostras através do método de Mackenzie a partir de coelhos ou cobaias positivos para dermatófitos, com o objetivo de avaliar se a presença de fungos saprófitas dificulta o isolamento e identificação de fungos dermatófitos.

Bibliografia

- Ahmed, S. A., Khan, Z., Wang, X. W., Moussa, T. A., Al-Zahrani, H. S., Almaghrabi, O. A., Sutton, D. A., Ahmad, S., Groenewald, J. Z., Alastruey-Izquierdo, A., van Diepeningen, A., Menken, S. B. J., Najafzadeh, M. J., Crous, P. W., Cornely, O., Hamprecht, A., Vehreschild, M. J. G. T., Kindo, A. J., & de Hoog, G. S. (2016). *Chaetomium*-like fungi causing opportunistic infections in humans: A possible role for extremotolerance. *Fungal Diversity*, 76(1), 11-26.
- Aho, R. (1980). Studies on fungal flora in hair from domestic and laboratory animals suspected of dermatophytosis. 1. Dermatophytes. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology*, 88(1-6), 79-83.
- Aho, R. (1983). Saprophytic fungi isolated from the hair of domestic and laboratory animals with suspected dermatophytosis. *Mycopathologia*, 83(2), 65-73.
- Ali, M. Z. (2013). *Reproduction of fungi*. DOI: 10.13140/RG.2.1.1063, 1-12.
- Aly, R. (1994). Culture media for growing dermatophytes. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 31(3), S107-S108.
- Annessi, G., Cimitan, A., Zambruno, G., & Silverio, A. D. (1992). Cutaneous phaeohyphomycosis due to *Cladosporium cladosporioides*. *Mycoses*, 35(9-10), 243-246.
- Asawanonda, P. & Taylor, C. R. (1999). Wood's light in dermatology. *International Journal of Dermatology*, 38, 801-807.
- Avsever, M. L., Polat, S. H., Çamkerten, I. & Aksoy, A. (2017). First isolation of *Alternaria alternata* from a dog in Turkey. *Veterinary Journal of Ankara University*, 64, 137-139.
- Awadin, W., Mosbah, E., Youssef, E. S., & El-Satar, A. A. (2015). A case of subcutaneous destructive facial swelling in a dog caused by *Mucor* species. *Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis*, 4 (3).
- Balsari, A., Bianchi, C., Cocilovo, A., Dragoni, I., Poli, G. & Ponti, W. (1981). Dermatophytes in clinically healthy laboratory animals. *Laboratory Animals*, 15, 75-77.
- Bensch, K., Groenewald, J. Z., Dijksterhuis, J., Starink-Willemse, M., Andersen, B., Summerell, B. A., Shin, H.-D., Dugan, F. M., Schroers, H.-J., Braun, U. & Crous, P. W. (2010). Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*). *Studies in Mycology*, 67, 1-94.
- Bensignor, E. (2010a). Dermatología de pequeños mamíferos domésticos: Estructura de la piel y el pelo. In E. Besignor (Ed.), N. Chai, C. Hadjadj, E. Leguay, E. Risi, L. Schiliger & S. Viaud, *Dermatología de los NAC: Nuevos animales de compañía*. (pp. 6-9). Espanha: Esteve Veterinaria.
- Bensignor, E. (2010b). Particularidades del examen dermatológico en los NAC y los AEIE. In E. Besignor (Ed.), N. Chai, C. Hadjadj, E. Leguay, E. Risi, L. Schiliger & S. Viaud, *Dermatología de los NAC: Nuevos animales de compañía*. (pp. 2-3). Espanha: Esteve Veterinaria.
- Bentubo, H. D. L., Fedullo, J. D. L., Corrêa, S. H. R., Teixeira, R. H. F. & Coutinho, S. D. A. (2006). Isolation of *Microsporum gypseum* from the haircoat of health wild felids kept in captivity in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37, 148-152.

- Bernardo, F., Lança, A., Guerra, M. M. & Martins, H. M. (2005). Dermatófitos isolados de animais de companhia (cão e gato), em Lisboa, Portugal (2000-2004). *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 100 (553-554), 85-88.
- Bio Agens Research and Development (n.d.). *Fungal infections*. Acedido em 31, Jan. 2019, disponível em: <http://www.vet-pythium.eu/en/dermatophytosis/>.
- Biomérieux (2018). *API the reference: API & ID 32 identification databases*. Acedido em Nov. 17, 2018, disponível em: https://www.biomerieux.pt/sites/subsidiary_uk/files/api-id32-identification-databases.pdf.
- Blanco, J. L. & Garcia, M.E. (2008). Immune response to fungal infections. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 125, 47-70.
- Borman, A. M., & Johnson, E. M. (2014). Interpretation of fungal culture results. *Current Fungal Infection Reports*, 8(4), 312-321.
- Brito, E. H., Fontenelle, R. O., Brilhante, R. S., Cordeiro, R. A., Monteiro, A. J., Sidrim, J. J., & Rocha, M. F. (2009). The anatomical distribution and antimicrobial susceptibility of yeast species isolated from healthy dogs. *The Veterinary Journal*, 182(2), 320-326.
- Brusselaers, N., Blot, S., & Vogelaers, D. (2011). Deep-seated *Candida* infections in the intensive care unit. *Netherlands Journal of Critical Care*, 15(4), 183-189.
- Campbell-Ward, M. & Meredith, A. (2014). Rabbits. In A. Meredith & C. Johnson-Delaney (Eds.), *BSAVA Manual of exotic pets*. (5th ed.). (pp. 76-102). Gloucester, England: BSAVA.
- Cabañes, F. J., Abarca, L., Bragulat, M. R. & Bruguera, T. (1988). Phaeohyphomycosis caused by *Alternaria alternata* in a mare. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 26, 359-365.
- Cabañes, F. J., Abarca, M. L., Bragulat, M. R., & Castellá, G. (1996). Seasonal study of the fungal biota of the fur of dogs. *Mycopathologia*, 133(1), 1-7.
- Cabañes, F. J. (2000). Dermatofitosis animals. Recientes avances. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17(1), 8-12.
- Cabañes, F. J., Vega, S. & Castellá, G. (2011). *Malassezia cuniculi* sp. nov., a novel yeast species isolated from rabbit skin. *Medical Mycology*, 49, 40–48.
- Carter, G. R. & Wise, D. J. (2004). Fungi. In G. R. Carter & D. J. Wise, *Essentials of veterinary bacteriology and micology*. (6th ed). (pp. 245-272). Iowa: Iowa State Press.
- Chermette, R., Ferreiro, L., & Guillot, J. (2008). Dermatophytoses in animals. *Mycopathologia*, 166(5-6), 385-405.
- Cox, N. H., & Irving, B. (1993). Cutaneous 'ringworm' lesions of *Scopulariopsis brevicaulis*. *British Journal of Dermatology*, 129(6), 726-728.
- Creus, L., Umbert, P., Torres-Rodríguez, J. M., & López-Gil, F. (1994). Ulcerous granulomatous cheilitis with lymphatic invasion caused by *Scopulariopsis brevicaulis* infection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 31(5), 881-883.
- Cutsem, J., Gerven, F., Fransen, J., Schrooten, P. & Janssen, P. A. J. (1990). The *in vitro* antifungal activity of ketoconazole, zinc pyrithione, and selenium sulfide against *Pityrosporum* and their efficacy as a shampoo in the treatment of experimental

- pityrosporiasis in guinea pigs. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 22, 993.
- Day, M. J., Peeters, D. & Clercx C. (2013). Canine sinonasal aspergillosis-penicilliosis. In C. E. Greene, *Infectious diseases of dogs and cats*. (4th ed.). (pp. 651-659). Athens, Georgia: Elsevier.
- Dedola, C., Stuart, A. P. G., Ridyard, A. E., Else, R. W., Broek, A. H. M., Choi, J. S. Hoog, G. S. & Thoday, K. L. (2010). Cutaneous *Alternaria infectoria* infection in a dog in association with therapeutic immunosuppression for the management of immune-mediated haemolytic anaemia. *Veterinary Dermatology*, 21(6), 626-634.
- Dey, J. C., Rahman, M. K., Rumi, M. A., Dutta, A., & Sayeed, M. A. (2016). Prevalence of Dermatophytosis in Rabbits at SAQTVH, Chittagong, Bangladesh. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, 3(6), 00100.
- Dhar, J., & Carey, P. B. (1993). *Scopulariopsis brevicaulis* skin lesions in an AIDS patient. *Aids*, 7(9), 1283.
- Di Mattia, D., Fondati, A., Monaco, M., Pasquetti, M., & Peano, A. (2018). Comparison of two inoculation methods for *Microsporum canis* culture using the toothbrush sampling technique. *Veterinary Dermatology*. DOI: 10.1111/vde.12705.
- Dobson, A. J., & Barnett, A. G. (2008). *An introduction to generalized linear models*. (3rd ed.). Boca Raton: CRC press.
- Donnelly, T. M., Rush, E. M. & Lackner, P. A. (2000). Ringworm in small exotic pets. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*. 9(2), 82–93.
- d'Ovidio, D. & Santoro, D. (2013). Oro-dental diseases and dermatological disorders are highly associated in pet rabbits - a case-control study. *Veterinary Dermatology*, 24, 531-e125.
- d'Ovidio, D., Grable, S. L., Ferrara, M., & Santoro, D. (2014). Prevalence of dermatophytes and other superficial fungal organisms in asymptomatic guinea pigs in Southern Italy. *Journal of Small Animal Practice*, 55(7), 355-358.
- Drabick, J. J., Gomatos, P. J., & Solis, J. B. (1990). Cutaneous cladosporiosis as a complication of skin testing in a man positive for human immunodeficiency virus. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 22(1), 135-136.
- Drouot, S., Mignon, B., Fratti, M., Roosje, P., & Monod, M. (2009). Pets as the main source of two zoonotic species of the *Trichophyton mentagrophytes* complex in Switzerland, *Arthroderma vanbreuseghemii* and *Arthroderma benhamiae*. *Veterinary dermatology*, 20(1), 13-18.
- Efuntoye, M. O. & Fashanu, S. O. (2001). Fungi isolated from skins and pens of healthy animals in Nigeria. *Mycopathologia*, 153, 21–23.
- Esch, R. E., Hartsell, C. J., Crenshaw, R., & Jacobson, R. S. (2001). Common allergenic pollens, fungi, animals, and arthropods. *Clinical reviews in Allergy & Immunology*, 21(2-3), 261-292.
- Feuerman, E., Alteras, I., Hönig, E., & Lehrer, N. (1975). Saprophytic occurrence of *Trichophyton mentagrophytes* and *Microsporum gypseum* in the coats of healthy laboratory animals. *Mycopathologia*, 55(1), 13-15.

- Feusner, J. D., Hembacher, E., & Phillips, K. A. (2009). The mouse who couldn't stop washing: pathologic grooming in animals and humans. *CNS Spectrums*, 14(9), 503-513.
- Fisher, F. W. (Ed.), Cook, N. B. (1998). *Fundamentals of diagnostic micology*. Philadelphia: Saunders.
- Fisher, P. & Graham, J. (2017). Rabbits. In J. W. Carpenter (Ed.), *Exotic animal formulary*. (5th ed.). (pp. 494-531). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Fisher, P. G. & Carpenter, J. W. (2012). Rabbits: Neurologic and musculoskeletal diseases. In K. E. Quesenberry & J. W. Carpenter (Eds.), *Ferrets, rabbits, and rodents: Clinical medicine and surgery*. (3rd ed.). (pp. 295-310). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Freitas, G. (2010). Fungos. In W. F. C. Ferreira, J. C. F. Sousa & N. Lima (Eds.), *Microbiologia*. (pp. 145-165). Lisboa: Lidel.
- Gallo, M. G., Lanfranchi, P., Poglayen, G., Calderola, S., Menzano, A., Ferroglio, E., & Peano, A. (2005). Seasonal 4-year investigation into the role of the alpine marmot (*Marmota marmota*) as a carrier of zoophilic dermatophytes. *Medical Mycology*, 43(4), 373-379.
- Gallo, M. G., Tizzani, P., Peano, A., Rambozzi, L., & Meneguz, P. G. (2005). Eastern cottontail (*Sylvilagus floridanus*) as carrier of dermatophyte fungi. *Mycopathologia*, 160(2), 163-166.
- Ginarte, M., Pereiro Jr, M., Fernández-Redondo, V., & Toribio, J. (1996). Plantar infection by *Scopulariopsis brevicaulis*. *Dermatology*, 193(2), 149-151.
- Goldfarb, N. J., & Herrmann, F. (1956). A Study of pH Changes by Molds in Culture Media. *Journal of Investigative Dermatology*, 27(3), 193-201. (Goldfarb & Herrmann, 1956)
- Gordon, M. A., Salkin, I. F., & Stone, W. B. (1975). *Phoma (Peyronellaea)* as zoopathogen. *Sabouraudia*, 13(3), 329-333.
- Greer, D. L. (1995). Evolving role of nondermatophytes in onychomycosis. *International Journal of Dermatology*, 34(8), 521-524.
- Grooters, A. M. & Foil, C. S. (2013). Miscellaneous fungal infections. In C. E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of dogs and cats*. (4th ed.). (pp. 675-688). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Hadjaje, C. (2010). Dermatología de lagomorfos: El conejo. In E. Besignor (Ed.), N. Chai, C. Hadjade, E. Leguay, E. Risi, L. Schiliger & S. Viaud, *Dermatología de los NAC: Nuevos animales de compañía*. (pp. 24-41). España: Esteve Veterinaria.
- Halsby, K. D., Walsh, A. L., Campbell, C., Hewitt, K., & Morgan, D. (2014). Healthy animals, healthy people: Zoonosis risk from animal contact in pet shops, a systematic review of the literature. *PLoS One*, 9(2), e89309.
- Harcourt-Brown, F. (2002). *Textbook of rabbit medicine*. Oxford, England: Butterworth Heinmann.
- Harvey, C. (1995). Rabbit and rodent skin diseases. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 4(4), 195-204.
- Hawkins, M. G. & Bishop, C. R. (2012). Disease problems of guinea pigs. In K. E. Quesenberry & J. W. Carpenter (Eds.), *Ferrets, rabbits, and rodents: Clinical medicine and surgery*. (3rd ed.). (pp. 295-310). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

- Herck, H., Den, I. T. H., Hage, M. & Zwart, P. (1988). Dermal cryptococcosis in a guinea pig. *Laboratory Animals*, 22, 88-91.
- Hergovich, A., Mauerer, I. & Riemer, V. (2015). Exotic animal companions and the personality of their owners. *Anthrozoös: A multidisciplinary journal of the interactions of people and animals*, 24(3), 317-327.
- Heseltine, J. C., Panciera, D. L., & Saunders, G. K. (2003). Systemic candidiasis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(6), 821-824.
- Hess, L. & Tater, K. (2012). Rabbits: Dermatologic diseases. In K. E. Quesenberry & J. W. Carpenter (Eds.), *Ferrets, rabbits, and rodents: Clinical medicine and surgery*. (3rd ed.). (pp. 232-244). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Hillyer, E. V. (1994). Pet rabbits. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 24(1), 25-65.
- Hnilica, K. A. & Patterson, A. P. (2017). Fungal skin diseases. In K. A. Hnilica & A. P. Patterson, *Small animal dermatology: A color atlas and therapeutic guide*. (4th ed.). (pp. 94-131). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Hoar, R. M. (1976). Biomethodology: Skin. In J. E. Wagner & P. J. Manning (Eds.), *The biology of the guinea pig*, (pp. 13-20). New York: Academic Press.
- Hope, W. W., Walsh, T. J., & Denning, D. W. (2005). The invasive and saprophytic syndromes due to *Aspergillus* spp.. *Medical Mycology*, 43(sup1), 207-238.
- Hoppmann, E. & Barron, H. W. (2007a). Ferret and rabbit dermatology. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 16(4), 225–237.
- Hoppmann, E. & Barron, H. W. (2007b). Rodent dermatology. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 16(4), 238–255.
- Institut National de Santé Publique du Québec (2016a). *Moulds fact sheets: Chaetomium spp.*. URL: <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/chaetomium-spp>.
- Institut National de Santé Publique du Québec (2016b). *Moulds fact sheets: Cladosporium cladosporioides*. URL: <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/cladosporium-cladosporioides>.
- Institut National de Santé Publique du Québec (2016c). *Moulds fact sheets: Phoma glomerata*. URL: <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/phoma-glomerata>.
- Jand, S. K., & Gupta, M. P. (1989). Dermatomycosis in Dogs. *Mycoses*, 32(2), 104-105.
- Jenkins, J. R. (2001). Skin disorders of the rabbit. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 4(2), 543-563.
- Jekl, V., Hauptman, K., & Knotek, Z. (2008). Quantitative and qualitative assessments of intraoral lesions in 180 small herbivorous mammals. *Veterinary Record*, 162(14), 442-449.
- Johnson-Delaney, C. (2014). Guinea pigs, chinchillas, degus and duprasi. In A. Meredith & C. Johnson-Delaney (Eds.), *BSAVA Manual of exotic pets*. (5th ed.). (pp. 28-62). Gloucester, England: BSAVA.

- Kanbe, T. (2008). Molecular approaches in the diagnosis of dermatophytosis. *Mycopathologia*, 166, 307–317.
- Kantarcioğlu, A. S., Yücel, A., & De Hoog, G. S. (2002). Case report. Isolation of *Cladosporium cladosporioides* from cerebrospinal fluid. *Mycoses*, 45(11-12), 500-503.
- Keeble, E., Meredith, A. & Richardson, J. (Eds.) (2016). *Rabbit medicine and surgery: Self-assessment color review*. (2nd ed.). Florida: CRP Press.
- Khosravi, A. R. (1996). Fungal flora of the hair coat of stray cats in Iran. *Mycoses*, 39, 241-243.
- Kraemer, A., Hein, J., Heusinger, A. & Mueller, R. S. (2012a). Clinical signs, therapy and zoonotic risk of pet guinea pigs with dermatophytosis. *Mycoses*, 56, 168–172.
- Kraemer, A., Mueller, R.S., Werckenthin, Straubinger, R.K. & Hein J. (2012b). Dermatophytes in pet guinea pigs and rabbits. *Veterinary Microbiology*, 157, 208–213.
- Kwon-Chung, K. J., Schwartz, I. S., & Rybak, B. J. (1975). A pulmonary fungus ball produced by *Cladosporium cladosporioides*. *American Journal of Clinical Pathology*, 64(4), 564-568.
- Latge, J. P. (1999). *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 310–350.
- Leek, A. (1999). Preparation of lactophenol cotton blue slide mounts. *Community Eye Health*, 12(30), 24.
- Lennox, A. M. (2008). Diagnosis and treatment of dental disease in pet rabbits. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 17(2), 107-113.
- Lewis, E., Hoff, G. L., Bigler, W. J., & Jefferies, M. B. (1975). Public health and the urban gray squirrel: Mycology. *Journal of Wildlife Diseases*, 11(4), 502-504.
- Li, X. F., Shen, Y. N., Chen, W., Chen, H., Gui-Xia, L. V., & Liu, W. D. (2009). A new medium for diagnosis of dermatophyte infection. *European Journal of Dermatology*, 19(1), 34-37.
- Lloret, A., Hartmann, K., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hosie, M. J., Lutz, H., Marsilio, F., Möstl, K., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U. & Horzinek, M. C. (2013). Rare opportunistic mycoses in cats: Phaeohyphomycosis and hyalohyphomycosis: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(7), 628-630.
- Lopez-Martinez, R., Mier, T. & Quirarte, M. (1984). Dermatophytes isolated from laboratory animals. *Mycopathologia*, 88, 111–113.
- Lund, A. & Deboer, DJ. (2008). Immunoprophylaxis of dermatophytosis in animals. *Mycopathologia*, 166(5-6), 407-424.
- Mackenzie, D. W. R. (1963). "Hairbrush diagnosis" in detection and eradication of non-fluorescent scalp ringworm. *British Medical Journal*, 2(5353), 363.
- Malloch, D. (2017). *Moulds: Their isolation, cultivation and identification*. Acedido em nov 7, 2018, disponível em: <http://website.nbm-mnb.ca/mycologywebpages/Moulds/Moulds.html>.

- Mancianti, F., Giannelli, C., Bendinelli, M., & Poli, A. (1992). Mycological findings in feline immunodeficiency virus-infected cats. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 30(3), 257-259.
- Marchisio, V. F., Gallo, M. G., Tullio, V., Nepote, S., Piscozzi, A., & Cassinelli, C. (1995). Dermatophytes from cases of skin disease in cats and dogs in Turin, Italy. *Mycoses*, 38(5-6), 239-244.
- Markley, A. J., Philpott, O. S., & Weidman, F. D. (1936). Deep scopulariopsosis of ulcerating granuloma type confirmed by culture and animal inoculation. *Archives of Dermatology and Syphilology*, 33(4), 627-641.
- Martino, P. A. & Luzi, F. (2004). Higiene en cunicultura: Control microbiológico del ambiente en exploraciones intensivas. *Boletín de cunicultura*, 133, 39-44.
- Mayer, J. & Mans, C. (2017). Rodents. In J. W. Carpenter (Ed.), *Exotic animal formulary*. (5th ed.). (pp. 459-493). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- McCullagh, P. & Nelder, J. A. (1989). *Generalized linear models*. (2nd ed.). London/New York: Chapman and Hall/CRC.
- McKay, J. S., Cox, C. L. & Foster, A. P. (2001). Cutaneous alternariosis in a cat. *Journal of Small Animal Practice*, 42, 75-78.
- Meredith, A. (2000). General biology and husbandry. In P. Flecknell (Ed.), *Manual of rabbit medicine and surgery*. (pp. 13-23). Gloucester, England: BSAVA.
- Meredith, A. (2006). Dermatology of mammals. In S. Patterson (Ed.), *Skin diseases of exotic pets*. (pp. 173-324). United Kingdom: Blackwell Science.
- Mignon, B. R., & Losson, B. J. (1997). Prevalence and characterization of *Microsporum canis* carriage in cats. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 35(4), 249-256.
- Mignon, B., Symoens & F. Losson, B (2002). *Candida albicans* cheilitis in guinea pig may be caused by commensal strains carried in the lower genital tract. *Veterinary Dermatology*, 14, 237-267.
- Miller, W. H., Griffin, C. E. & Campbell, K. L. (2013). *Muller and Kirk's small animal dermatology*. (7th ed.). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Mitchell, M. (2009). *Dvm360: Exotic mammal dermatology (proceedings)*. Acedido em Junho 18, 2018, disponível em: <http://veterinarycalendar.dvm360.com/exotic-mammal-dermatology-proceedings>.
- Mitchell, T. G. (2013). Micology. In G. F. Brooks, K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse & T. A. Mietzner, *Janetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology*, (26th ed.). (pp. 671-713). New York: McGraw-Hill.
- Moretti, A., Posteraro, B., Boncio, L., Mechelli, L., Gasperis, E., Agnetti, F., & Raspa, M. (2004). Diffuse cutaneous candidiasis in a dog. Diagnosis by PCR-REA. *Revista Iberoamericana de Micología*, 21(3), 139-142.
- Moriello, K. A. & Deboer, D. J. (1991). Fungal flora of the haircoat of cats with and without dermatophytosis. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 29, 285-292.
- Moriello, K. A. (2001). Diagnostic techniques for dermatophytosis. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 16(4), 219-224.

- Moriello, K. A., & Newbury, S. (2006). Recommendations for the management and treatment of dermatophytosis in animal shelters. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 36(1), 89-114.
- Moriello, K. A., Coyner, K., Paterson, S., & Mignon, B. (2017). Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Veterinary Dermatology*, 28(3), 266-e68.
- Naidu, J., Singh, S. M., & Pouranik, M. (1991). Onychomycosis caused by *Chaetomium globosum* Kunze. *Mycopathologia*, 113(1), 31-34.
- National Cancer Institute (2001). *Visuals online: Skin*. Acedido em Jan. 15, 2019, disponível em: <https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=1809>.
- Navi, S. S., Bandyopadhyay, R., Hall, A. J., & Bramel-Cox, P. J. (1999). *A pictorial guide for the identification of mold fungi on sorghum grain*. Information Bulletin 59. Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.
- Neglia, J. P., Hurd, D. D., Ferrieri, P., & Snover, D. C. (1987). Invasive Scopulariopsis in the immunocompromised host. *The American Journal of Medicine*, 83(6), 1163-1166.
- Neri, G., Ciardo, M. G., & Croce, A. (2002). Rhinocerebral mucormycosis: report of a rare case in the head-neck and chest area. *Acta Otorhinolaryngologica Italica*, 22(1), 28-33.
- Odds, F. C. (1987). *Candida* infections: An overview. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 15(1), 1-5.
- O'Malley, B. (2005). Rabbits. In B. O'Malley, *Clinical anatomy and physiology of exotic species*. (pp. 173-195). United Kingdom: Elsevier.
- Outbridge, C. A., Myers, S. L. & Summerbell, R. C. (1995): Phaeohyphomycosis in a cat. *Canadian Veterinary Journal*, 36, 629-230.
- Overgaauw, P. A. M., van Avermaete, K. H. A., Mertens, C. A. R. M., Meijer, M., & Schoemaker, N. J. (2017). Prevalence and zoonotic risks of *Trichophyton mentagrophytes* and *Cheyletiella* spp. in guinea pigs and rabbits in Dutch pet shops. *Veterinary Microbiology*, 205, 106-109.
- Paixão, G.C., Sidrim, J.J.C., Campos, G.M.M., Brilhante, R.S.N. & Rocha, M.F.G. (2001). Dermatophytes and saprobe fungi isolated from dogs and cats in the city of Fortaleza, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 53 (5), 568-573.
- Pastor, F. J. & Guarro, J. (2008). *Alternaria* infections: Laboratory diagnosis and relevant clinical features. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 734–746.
- Peano, A., Rambozzi, L. & Gallo, M. G. (2005). Development of an enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) for the serodiagnosis of canine dermatophytosis caused by *Microsporum canis*. *Veterinary Dermatology*. 16, 102–107.
- Petrini, O. (1991). Fungal endophytes of tree leaves. In J. H. Andrews & S. Hirano (Eds.), *Microbial ecology of leaves*. (pp 179-197). New York: Springer-Verlag.
- Pitt, J. I. (1994). The current role of *Aspergillus* and *Penicillium* in human and animal health. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 32, Supplement 1, 17-32.
- Poutahidis, T., Angelopoulou, K., Karamanavi, E., Polizopoulou, Z. S., Doulberis, M., Latsari, M., & Kaldrymidou, E. (2009). Mycotic encephalitis and nephritis in a dog due to

- infection with *Cladosporium cladosporioides*. *Journal of Comparative Pathology*, 140(1), 59-63.
- Pressler, B. M. (2012). Candidiasis and rhodotorulosis. In C. E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 666-671). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Quesenberry, K. E., Donnelly, T. M. & Mans, C. (2012). Biology, husbandry, and clinical techniques of guinea pigs and chinchillas. In K. E. Quesenberry & J. W. Carpenter (Eds.), *Ferrets, rabbits, and rodents: Clinical medicine and surgery*. (3rd ed.). (pp. 279-294). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Quevedo, U. M., Lescano, G. J. & Fernández, A. V. (2013). Dermatitis asociada a *Malassezia* spp. en un conejo (*Oryctolagus cuniculus*) criado como mascota. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 24(4), 565-570.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., FitzPatrick, E. S., Fanning, S. & Hartigan, P. J. (2011). Mycology: General features of fungi associated with disease in animals. In P.J. Quinn, B.K. Markey, F.C. Leonard, E.S. FitzPatrick, S. Fanning & P.J. Hartigan, *Veterinary microbiology and microbial disease*. (2nd ed.). (pp. 1102-1117). UK: Wiley-Blackwell.
- Radi, Z. (2004). Outbreak of sarcoptic mange and malasseziasis in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Comparative Medicine*, 54 (4), 434 – 437.
- Ragge, N. K., Hart, J. C., Easty, D. L., & Tyers, A. G. (1990). A case of fungal keratitis caused by *Scopulariopsis brevicaulis*: treatment with antifungal agents and penetrating keratoplasty. *The British Journal of Ophthalmology*, 74(9), 561.
- Raposo, J. B., Nobre, M. N., Fernandes, C. G., & Porto, M. (1996). Candidíase cutânea em um canino. *Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia*, 2(1).
- Reedy, L. M., Miller, W. H. & Willemse, T. (1997). Aeroallergens and aerobiology. In L. M. Reedy, W. H. Miller & T. Willemse, *Allergic skin diseases of dogs and cats*. (2nd ed.). (pp. 50-82). Philadelphia: Saunders.
- Rhodes, K. H. & Werner, A. H. (2011). Dermatophytosis. In K. H. Rhodes & A. H. Werner, *Blackwell's five-minute veterinary consult clinical companion: Small animal dermatology*. (2nd ed.). (pp. 275-282). West Sussex, England: Wiley-Blackwell.
- Roden, M. M., Zaoutis, T. E., Buchanan, W. L., Knudsen, T. A., Sarkisova, T. A., Schaufele, R. L., Sein, M., Sein, T., Chiou, C. C., Chu, J. H., Kontoyiannis, D. P. & Walsh, T. J. (2005). Epidemiology and outcome of zygomycosis: A review of 929 reported cases. *Clinical Infectious Diseases*, 41(5), 634-653.
- Rosenthal, S. A., & Wapnick, H. (1963). The value of Mackenzie's' hairbrush technic in the isolation of *T. mentagrophytes* from clinically normal guinea pigs. *Journal of Investigative Dermatology*, 41, 5-6.
- Saeed, N., Sattar, M., Shakoor, S., Farooqi, J., Mehboob, R., Zafar, A., & Jabeen, K. (2018). Identification of *Candida* species by direct inoculation of cornmeal tween™ 80 agar from blood culture bottles: Rapid and cost-effective approach. *Biomedical and Biotechnology Research Journal*, 2(2), 122.
- Salkin, I. F., Padhye, A. A., & Kemna, M. E. (1997). A new medium for the presumptive identification of dermatophytes. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(10), 2660-2662.

- Salkin, I. F. (1973). Dermatophyte test medium: Evaluation with nondermatophytic pathogens. *Applied Microbiology*, 26(2), 134-137.
- Samanta, I. (2015). *Veterinary micology*. India: Springer.
- Santos, J. I., Coelho, M. P. P. & Nappi, B. P. (2002). Diagnóstico laboratorial das dermatofitoses. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 34(1), 3-6.
- Scarff, D. (2008). Skin diseases of pet rabbits. *UK Vet*, 13, 1-7.
- Scott D. W., Miller W. H. & Griffin, C. E. (2001). Dermatoses of pet rodents, rabbits and ferrets. In *Small Animal Dermatology*. (6th ed). (pp. 1415-1458). Philadelphia: Saunders.
- Seyedmousavi, S., Guillot, J. & Hoog, G. S. (2013). Phaeohyphomycoses, emerging opportunistic diseases in animals. *Clinical Microbiology Reviews*, 26, 19-35.
- Shirani, D., Ghaffari, M. S., Khosravi, A. R., Vajhi, A. R., Khorami, N., Salehi, T. Z., Shokri, H. & Abarkar, M. (2008). An unusual case of nasal mucormycosis caused by *Rhizopus oryzae* in a German shepherd dog. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 9(4), 378-380.
- Sierra, P., Guillot, J., Jacob, H., Bussi  ras, S., & Chermette, R. (2000). Fungal flora on cutaneous and mucosal surfaces of cats infected with feline immunodeficiency virus or feline leukemia virus. *American Journal of Veterinary Research*, 61(2), 158-161.
- Sims, C. R., & Ostrosky-Zeichner, L. (2007). Contemporary treatment and outcomes of zygomycosis in a non-oncologic tertiary care center. *Archives of Medical Research*, 38(1), 90-93.
- Sood, N., & Makkar, R. (2000). Case report. Subcutaneous phaeohyphomycosis due to *Cladosporium cladosporioides*. *Mycoses*, 43(1-2), 85-87.
- Songer, J. G. & Post, K. W. (2005). Veterinary mycology. In J. G. Songer & K. W. Post, *Veterinary microbiology: Bacterial and fungal agents of animal disease*. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Spano, M., Zuliani, D., Peano, A., & Bertazzolo, W. (2018). *Cladosporium cladosporioides*-complex infection in a mixed-breed dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 47(1), 150-153.
- Sri-Jayantha, L., Matthews, K. G., & Scharf, V. (2019). *Scopulariopsis brevicaulis* Rhinosinal Infection in a Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 55(1), e551-02.
- Stojanov, I. M., Jak  i  , S. M. & Prodanov, J. Z. (2007). Presence and importance of saprophyte fungal organisms on dog skin. *Zbornik Matice Srpske Za Prirodne Nauke*, 113, 261-265.
- Summerbell, R. C., Kane, J., & Krajden, S. (1989). Onychomycosis, *tinea pedis* and *tinea manuum* caused by non-dermatophytic filamentous fungi. *Mycoses*, 32(12), 609-619.
- Sympania, M. F. & Baxter, M. (1996). Isolation of fungi from the pelage of cats and dogs using the hairbrush technique. *Mycopathologia*, 134, 129-133.
- Taboada, J. & Grooters, A. M. (2008). Systemic antifungal therapy. In J. Maddison, S. Page & D. Church (Eds.), *Small animal clinical pharmacology*. (2nd ed.). (pp. 186-197). Philadelphia: Elsevier Saunders.

- Taplin, D., Zaias, M. D. N., Rebell, M. S. G. & Blank, H. (1969). Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). *Archives of Dermatology*, 99, 203-209.
- Thomson, P., Monsalves, P., Maier, L., & Silva, V. (2015). Colonización por dermatofitos en cuyes (*Cavia porcellus*) mantenidos en tiendas de mascotas. Primer reporte en Santiago de Chile. *Revista Iberoamericana de Micología*, 32(2), 103-105.
- Tullio, V., Banche, G., Allizond, V., Roana, J., Mandras, N., Scalas, D., Panzone, M., Cervetti, O., Valle, S., Carlone, N. & Cuffini, A. M. (2010). Non-dermatophyte moulds as skin and nail foot mycosis agents: *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* and *Microascus cinereus*. *Fungal Biology*, 114(4), 345-349.
- Turner, P. V. Brash, M. L. & Smith, D. A. (2018a). Guinea pigs. In P. V. Turner, M. L. Brash & D. A. Smith, *Pathology of small mammal pets*. (pp. 147-192). Hoboken, USA: Wiley Blackwell.
- Turner, P. V. Brash, M. L. & Smith, D. A. (2018b). Rabbits. In P. V. Turner, M. L. Brash & D. A. Smith, *Pathology of small mammal pets*. (pp. 1-88). Hoboken, USA: Wiley Blackwell.
- University of Adelaide (2016a). *Mycology online*: Microsporum. Acedido em Jan. 15, 2019, disponível em: <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/dermatophytes/microsporum/>.
- University of Adelaide (2016b). *Mycology online*: Penicillium. Acedido em Dez. 26, 2018, disponível em: <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/penicillium/>.
- University of Adelaide (2016c). *Mycology online*: Rhodotorula. Acedido em Jan. 15, 2019, disponível em: <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/yeasts/rhodotorula/>.
- Vaden, S. L., Knoll, J. S., Smith, F. W. K. & Tilley, L. P. (2009). Dermatophyte culture. In S. L. Vaden, J. S. Knoll, F. W. K. Smith & L. P. Tilley, *Blackwell's five-minute veterinary consult: Laboratory tests and diagnostic procedures: Canine & feline*. (pp. 225-227). Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Van Cutsem, J., Van Gerven, F., Geerts, H., & Rochette, F. (1985). Treatment with enilconazole spray of dermatophytosis in rabbit farms. *Mycoses*, 28(8), 400-407.
- Vangeel, I., Pasmans, F., Vanrobaeys, M., Herdt, P. & Haesebrouck, F. (2000). Prevalence of dermatophytes in asymptomatic guinea pigs and rabbits. *Veterinary Record*, 146, 440-441.
- Vasallo, G., Sarduy, L., & Vazques, X. (2013). Utilización del ajo en el tratamiento de la dermatomicosis en conejos. REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 14(11B), 1-4.
- Vella, D. & Donnelly, T. M. (2012). Basic anatomy, physiology, and husbandry. In K. E. Quesenberry & J. W. Carpenter (Eds.), *Ferrets, rabbits, and rodents: Clinical medicine and surgery*. (3rd ed.). (pp. 157-173). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Viaud, S. (2010). Dermatología de los roedores (caviomorfos y miomorfos). In E. Besignor (Ed.), N. Chai, C. Hadjade, E. Leguay, E. Risi, L. Schiliger & S. Viaud, *Dermatología de los NAC: Nuevos animales de compañía*. (pp. 42-74). España: Esteve Veterinária.
- Vieira, M. R., Milheiro, A., & Pacheco, F. A. (2001). Phaeohyphomycosis due to *Cladosporium cladosporioides*. *Medical Mycology*, 39, 135-137.

- Viguié-Vallanet, C., & Paugam, A. (2009). Dermatofitos transmitidos por animales. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 43(2), 263-270.
- Wang, X. W., Houbraken, J., Groenewald, J. Z., Meijer, M., Andersen, B., Nielsen, K. F., Crous, P. W. & Samson, R. A. (2016). Diversity and taxonomy of *Chaetomium* and *chaetomium*-like fungi from indoor environments. *Studies in Mycology*, 84, 145-224.
- Waxverlem, M. (2002). Cutaneous candidiasis in dog caused by *Candida guilliermondii*. *The Veterinary Record*, 728.
- Welsh, R. D., & Ely, R. W. (1999). *Scopulariopsis chartarum* systemic mycosis in a dog. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(6), 2102-2103.
- Willey, J. M., Sherwood, L. M. & Woolverton, C. J. (2014). The *Fungi (Eumycota)*. In J. M. Willey, L. M. Sherwood & C. J. Woolverton, *Prescott's microbiology*. (9th ed.). (pp. 588-603). New York: McGraw-Hill.
- White, S. D., Bourdeau, P. J. & Meredith, A. (2002). Dermatological problems of rabbits. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 11(3), 141–150.
- White, S. D., Bourdeau, P. J., & Meredith, A. (2003). Dermatologic problems in guinea pigs. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians*, 25(9), 690-700.
- White, S.D., Guzman, D. S. M., Paul-Murphy, J. & Hawkins, M. G. (2016). Skin diseases in companion guinea pigs (*Cavia porcellus*): A retrospective study of 293 cases seen at the Veterinary Medical Teaching Hospital, University of California at Davis (1990–2015). *Veterinary Dermatology*, 27(5), 395-e100.
- Woo, P. C., Ngan, A. H., Chui, H. K., Lau, S. K., & Yuen, K. Y. (2010). Agar block smear preparation: a novel method of slide preparation for preservation of native fungal structures for microscopic examination and long-term storage. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(9), 3053-3061.
- Woudenberg, J.H.C., Groenewald, J.Z., Binder, M. & Crous, P.W. (2013). *Alternaria* redefined. *Studies in Micology*, 75, 171–212.
- Zachary, D., Chapin, K., Binns, L., & Tashima, K. (2011). Cutaneous mucormycosis complicating a polymicrobial wound infection following a dog bite. *Case Reports in Infectious Diseases*, 2011, Article ID 348046.
- Zaitz, C., Heins-Vaccari, E. M., Freitas, R. S., Arriagada, G. L. H., Ruiz, L., Totoli, S. A. S., Marques, A. C., Rezze, G. G., Muller, H., Valente, N. S. & Lacaz, C. D. S. (1997). Subcutaneous pheohyphomycosis caused by phoma cava: Report of a case and review of the literature. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 39, 43-48.
- Zaror, L., & Casas, S. (1988). *Microsporium canis* en conejos angora sanos (Valdivia-Chile). *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 35(1-10), 204-206.
- Zrimšek, P. & Drobnič-Košorok, M. (2002). Diagnostic value of ELISA tests for the detection of specific antibodies in cats and rabbits with dermatophytosis. *Food Technology and Biotechnology*, 40 (3), 171–175.

Anexos

1. Casuística

1.1. Clínica médica

Tabela 34 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) dos casos observados em clínica médica durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por área médica, por diagnóstico e por espécie

Área médica	FA	FR (%)	Diagnóstico	FA	FR (%)	Espécie					
						Cão		Gato		Exótico	
						FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)
Cardiologia	6	2,12	Cardiomiopatia dilatada	1	16,67	1	100,00				
			Cardiomiopatia restritiva	1	16,67			1	100,00		
			Derrame pericárdico	1	16,67	1	100,00				
			Insuficiência cardíaca congestiva	2	33,33	2	100,00				
			Insuficiência valvular mitral	1	16,67	1	100,00				
Comportamento	3	1,06	Agressividade	1	33,33	1	100,00				
			Ansiedade por separação	1	33,33	1	100,00				
			Pterofagia	1	33,33					1	100,00
Dermatologia	59	20,85	Abcesso	1	1,69					1	100,00
			Alopécia de origem desconhecida	3	5,08					3	100,00
			Dermatite alérgica à picada da pulga	2	3,39	1	50,00	1	50,00		
			Lipoma	1	1,69					1	100,00
			Dermatite atópica	24	40,68	24	100,00				
			Dermatite bacteriana	5	8,47					5	100,00
			Dermatite húmida	1	1,69	1	100,00				
			Fístula perianal	2	3,39	1	50,00	1	50,00		
			Fibropapiloma	1	1,69	1	100,00				
			Onicomadese	1	1,69	1	100,00				
			Otite externa	10	16,95	8	80,00	1	10,00	1	10,00
			Otohematoma	1	1,69	1	100,00				
			Papiloma	3	5,08	3	100,00				
			Pododermatite	2	3,39	1	50,00			1	50,00
			Rutura do tímpano	2	3,39	2	100,00				
Doenças imunomediadas	3	1,06	Lúpus Eritematoso Sistémico (LES)	1	33,33	1	100,00				
			Pênfigus foliáceo	1	33,33	1	100,00				
			Trombocitopenia imunomediada	1	33,33	1	100,00				
Doenças infecciosas	22	7,77	Leucemia Felina (FeLV)	2	9,09			2	100,00		
			Panleucopénia felina	3	13,64	3	100,00				
			Síndrome coriza	5	22,73			5	100,00		
			Síndrome de Imunodeficiência Felina (FIV)	4	18,18			4	100,00		
			Leptospirose	1	4,55	1	100,00				
			Parvovirose canina	6	27,27	6	100,00				
			Traqueobronquite infecciosa	1	4,55	1	100,00				
Doenças parasitárias	16	5,65	Ehrlichiose	1	6,25	1	10				
			Leishmaniose	10	62,50	9	90,00	1	10,00		
			Micoplasmose	1	6,25			1	100,00		
			Acaridiose	1	6,25					1	100,00
			Infestação por pulgas	3	18,75	1	33,33	2	66,67		

Tabela 34 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) dos casos observados em clínica médica durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por área médica, por diagnóstico e por espécie
(continuação)

Endocrinologia	14	4,95	<i>Diabetes mellitus</i>	6	42,86	3	50,00	3	50,00		
			<i>Diabetes insipidus</i>	1	7,14	1	100,00				
			Hiperadrenocorticismo	3	21,43	3	100,00				
			Hipertiroidismo	2	14,29			2	100,00		
			Hipotiroidismo	2	14,29	2	100,00				
Estomatologia	15	5,30	Doença periodontal	5	33,33	3	60,00	2	40,00		
			Estomatite	2	13,33			1	50,00	1	50,00
			Doença dentária adquirida	8	53,33					8	100,00
Gastroenterologia	22	7,77	Coprostase	4	18,18					4	100,00
			Diarreia inespecífica	1	4,55					1	100,00
			Enterocolite crónica	6	27,27	5	83,33	1	16,67		
			Gastrite aguda	5	22,73	3	60,00	2	40,00		
			Gastrite crónica	1	4,55			1	100,00		
			Gastro-enterite aguda	4	18,18	3	75,00	1	25,00		
			Insuficiência pancreática exócrina	1	4,55	1	100,00				
Neurologia	15	5,30	Défice proprioceptivo de origem desconhecida	1	6,67					1	100,00
			Encefalitozoonose	4	26,67					4	100,00
			Epilepsia	4	26,67	4	100,00				
			Hérnia discal	3	20,00	3	100,00				
			Meningoencefalite granulomatosa	1	6,67	1	100,00				
			Síndrome vestibular	2	13,33	2	100,00				
Oftalmologia	31	10,95	Blefarite	1	3,23					1	100,00
			Cataratas	10	32,26	9	90,00			1	10,00
			Conjuntivite	3	9,68	3	100,00				
			Exoftalmia	2	6,45					2	100,00
			Glaucoma	2	6,45	2	100,00				
			Luxação anterior cristalino	2	6,45	2	100,00				
			Melanose difusa da íris	1	3,23			1	100,00		
			Neoplasia intra-ocular	1	3,23			1	100,00		
			Panofalmitite	1	3,23					1	100,00
			Queratite herpética	1	3,23			1	100,00		
			Sequestro de córnea	3	9,68			3	100,00		
			Úlcera da córnea	3	9,68	3	100,00				
			Uveíte secundária a leishmaniose	1	3,23	1	100,00				
Oncologia	33	11,66	Adenocarcinoma mamário	7	21,21	4	57,14	3	42,86		
			Carcinoma das células de transição vesical	1	3,03	1	100,00				
			Carcinoma pulmonar indeterminado	1	3,03	1	100,00				
			Histiocitoma cutâneo	1	3,03	1	100,00				
			Linfoma intestinal	5	15,15			5	100,00		
			Linfoma mediastínico	1	3,03			1	100,00		
			Linfoma multicêntrico	7	21,21	7	100,00				
			Linfoma nasal	1	3,03			1	100,00		
			Mastocitoma cutâneo	2	6,06	2	100,00				
			Mastocitoma esplénico	1	3,03	1	100,00				
			Melanoma oral	2	6,06	2	100,00				
			Neoplasia testicular indeterminada	2	6,06	1	50,00			1	50,00
			Síndrome mielodisplásico	1	3,03	1	100,00				
			Tricofolliculoma	1	3,03					1	100,00
Ortopedia	6	2,12	Artrose cotovelo	2	33,33	2	100,00				
			Fratura da tíbia	2	33,33	1	50,00			1	50,00
			Fratura do metacarpo	1	16,67	1	100,00				
			Fratura do úmero	1	16,67					1	100,00

Tabela 34 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) dos casos observados em clínica médica durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por área médica, por diagnóstico e por espécie (continuação)

Otorrinolaringologia	5	1,77	Inalação de corpo estranho	2	40,00	2	100,00		
			Rinite aguda	1	20,00			1	100,00
			Rinite crónica	2	40,00	2	100,00		
Pneumologia	10	3,53	Derrame pleural	1	10,00	1	100,00		
			Infeção respiratória das vias aéreas inferiores	6	60,00			1	16,67
			Tosse inespecífica	3	30,00	2	66,67	1	33,33
Teriogenologia	3	1,06	Distócia	2	66,67				
			Piometra	1	33,33	1	100,00		
Urologia	21	7,42	Cistite	6	28,57	1	16,67	4	66,67
			Hipoplasia renal	1	4,76	1	100,00		
			Insuficiência renal crónica	7	33,33			7	100,00
			Obstrução uretral	3	14,29			3	100,00
			Urolitíase	4	19,05	1	25,00	3	75,00
Total	283	100,00		283	100,00	166		67	51

1.2. Medicina preventiva

Tabela 35 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) dos actos médicos em medicina preventiva durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por espécie

Ato médico	FA	FR (%)	Características	FA	FR (%)	Espécie					
						Cão		Gato		Exótico	
						FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)
Consulta informativa	13	17,11	Maneio	5	38,46					5	100,00
			Esterilização	8	61,54	3	37,50	1	12,50	4	50,00
Desparasitação	36	47,37	Externa	12	33,33	2	16,67	3	25,00	7	58,33
			Interna	24	66,67	7	29,17	4	16,67	13	54,17
Identificação eletrónica	2	2,63				2	100,00				
Vacinação	25	32,89				11	44,00	7	28,00	7	28,00
Total	76	100,00				25		15		36	

1.3. Clínica cirúrgica

Tabela 36 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das cirurgias em que a estudante participou durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por área cirúrgica, por intervenção cirúrgica e por espécie

Área	FA	FR (%)	Cirurgia	FA	FR (%)	Espécie					
						Cão		Gato		Exótico	
						FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)
Cardiologia	1	1,11	Cirurgia de de correção de Persistência do Ducto Arterioso (PDA)	1	100,00			1	100,00		
Dermatologia	10	11,11	Ablação do canal auditivo externo	1	10,00	1	100,00				
			Exérese nódulo de cutâneo	9	90,00	9	100,00				
Estomatologia	14	15,56	Exérese de epúlida	2	14,29	2	100,00				
			Exodontia	5	35,71	3	60,00			2	40,00
			Destartarização	3	21,43	3	100,00				
			Odontoplastia	4	28,57					4	100,00
Gastroenterologia	1	1,11	Gastropexia	1	100,00	1	100,00				
Neurologia	6	6,67	Hemilaminectomia	5	83,33	5	100,00				
			Ventral slot	1	16,67	1	100,00				

Tabela 36 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) das cirurgias em que a estudante participou durante o período de estágio no HEV da FMV-ULisboa, por área cirúrgica, por intervenção cirúrgica e por espécie (continuação)

Oftalmologia	11	12,22	Correção de entropion	2	18,18	2	100,00				
			Enucleação do globo ocular	1	9,09	1	100,00				
			Exérese de calázio	1	9,09	1	100,00				
			Exérese de nódulos palpebrais	2	18,18	2	100,00				
			Facoemulsificação	2	18,18	2	100,00				
			Flap conjuntival	2	18,18	2	100,00				
			Queratectomia superficial	1	9,09			1	100,00		
Outras cirurgias de tecidos moles	4	4,44	Exérese linfonodo poplíteo	1	25,00	1	100,00				
			Exérese linfonodo retrofaríngeo	1	25,00	1	100,00				
			Hérnia diafragmática	1	25,00	1	100,00				
			Hérnia inguinal	1	25,00	1	100,00				
Ortopedia	13	14,44	Avanço da Tuberossidade Tibial (TTA)	2	15,38	2	100,00				
			Osteossíntese da fíbula	1	7,69	1	100,00				
			Osteossíntese da mandíbula	1	7,69	1	100,00				
			Osteossíntese da tíbia	3	23,08	1	33,33	2	66,67		
			Osteossíntese do fémur	5	38,46	3	60,00	2	40,00		
			Osteotomia Tripla da Tíbia (TTO)	1	16,67	1	100,00				
Teriogenologia	28	31,11	Cesariana	1	3,57	1	100,00				
			Mastectomia	2	7,14			2	100,00		
			Orquiectomia	8	28,57	2	25,00	5	62,50	1	12,50
			Ovario-histerectomia profilática	15	53,57	4	26,67	9	60,00	2	13,33
			Ovariohisterectomia por piómetra	2	7,14	2	100,00				
Urologia	2	2,22	Cistotomia	1	100,00	1	50,00	1	50,00		
Total	90	100		90	100,00	58	64,44	23	25,56	9	10,00

1.4. Imagiologia

Tabela 37 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) dos exames imagiológicos em que a estudante participou durante o estágio no HEV da FMV-ULisboa, por tipo de exame e por espécie

Exame	FA	FR (%)	Tipo de exame	FA	FR (%)	Características do exame	FA	FR (%)	Espécie					
									Cão		Gato		Exótico	
									FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)
Ecografia	77	38,50	Abdominal	70	90,91				44	62,86	24	34,29	2	2,86
			Cardíaca	6	7,79				4	66,67	2	33,33		
			Pélvica	1	1,30				1	100,00				
Endoscopia	10	5,00	Colonoscopia	1	10,00				1	100,00				
			Gastrosocopia	2	20,00				2	100,00				
			Rinoscopia	5	50,00				4	80,00	1	20,00		
			Videotoscopia	2	20,00				2	100,00				
Radiografia	68	34,00	Abdómen	7	10,29				6	85,71	1	14,29		
			Crânio	4	5,88								4	100,00
			Esqueleto axial	3	4,41	Cervical	1	33,33	1	100,00				
						Coluna toracolumbar	2	66,67	2	100,00				
			Esqueleto apendicular	23	33,82	Carpo	1	4,35	1	100,00				
						Articulação úmero-radio-ulnar	2	8,70	2	100,00				
						Articulação coxo-femoral	7	30,43	7	100,00				
						Fémur	4	17,39	3	75,00	1	25,00		
						Articulação femoro-tibio-patelar	4	17,39	4	100,00				

Tabela 37 – Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) dos exames imagiológicos em que a estudante participou durante o estágio no HEV da FMV-ULisboa, por tipo de exame e por espécie (continuação)

						Tibia	2	8,70		2	100,00								
						Articulação tibio-társica	1	4,35		1	100,00								
						Tarso	2	8,70	2	100,00									
			Mielografia	3	4,41				3	100,00									
			Tórax	28	41,18				22	78,57	4	14,29	2	7,14					
Tomografia Computadorizada	45	22,50	Abdómen	4	8,89				4	100,00	0	0,00							
			Crânio	23	51,11				15	65,22	6	26,09	2	8,70					
			Coluna	10	22,22	Cervical	7	70,00	6	85,71	1	14,29							
						Lombo-sagrada	2	20,00	2	100,00									
						Completa	1	10,00	1	100,00									
			Membros	3	6,67				3	100,00									
			Tórax	5	11,11				5	100,00									
Total	200	100,00		200	100,00			89		16		8							

2. Taxonomia

Tabela 38 – Taxonomia das espécies fúngicas com maior relevância em medicina veterinária (Samanta, 2015)

Reino	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	Espécies
Fungi	Zygomycota	Zygomycetes	Entomophthorales	Basidiobolaceae	Basidiobolus	Basidiobolus ranarum
				Ancylistaceae	Conidiobolus	Conidiobolus coronatus
	Basidiomycota	Tremellomicetes	Tremellales	Tremellaceae	Cryptococcus	Cryptococcus neoformans var. neoformans, C. neoformans var. grubii, C. gattii
	Ascomycota	Eurascomycetes	Onygenales	Ajellomycetaceae	Blastomyces	Blastomyces dermatitidis
				Onygenaceae	Histoplasma	Histoplasma capsulatum
					Coccidioides	Coccidioides immitis, C. posadasii
					Emmonsia	E. crescens, E. parva
				Arthrodermataceae	Trichophyton	T. tonsurans, T. equinum, T. interdigitale
					Microsporum	M. audouinii, M. canis, M. gypseum-fulvum complex
					Epidermophyton	E. floccosum, E. stockdaleae
					Chrysosporium	
		Eurotiomicetes	Microascales	Microascaceae	Aspergillus	A. fumigatus, A. flavus, A. terreus, A. niger, A. nidulans, A. ustus
			Eurotiales	Trichocomaceae	Penicillium	P. marneffei
		Pyrenomicetes	Ophiostomatales	Ophiostomataceae	Sporothrix	S. schenckii
		Saccharomycetes (Hemiascomycetes)	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	Candida	C. albicans, C. tropicalis, C. glabrata
		Dothideomycetes	Capnodiales	Davidiellaceae	Cladosporium	C. cladosporioides
			Pleosporales	Pleosporaceae	Alternaria	A. alternate
					Bipolaris	B. spicifera
		Eurotiomycetes	Chaetothyriales	Herpotrichiellaceae	Cladophialophora, Exophiala, Fonsecaea, Phialophora	C. bantiana, E. attenuate, F. multimorphosa, P. verrucosa
			Ochroconiales		Ochroconis	O. gallopava
		Archiascomycetes	Pneumocystidales	Pneumocystidaceae	Pneumocystis	P. carinii
	Mucoromycotina (subfilo)		Mucorales	Mucoraceae	Rhizopus, Absidia, Mucor	Rhizopus arrhizus (R. oryzae), Mucor circinelloides complex
Stramenopila (Chromista)	Oomycota	Oomycetes	Pythiales	Pythiaceae	Pythium	P. insidiosum
					Lagenidium	L. giganteum

3. Questionário

Fungos dermatófitos em coelhos e cobaios

Informação sobre o projeto

Este questionário está integrado num projeto cujos objetivos são estimar a frequência de fungos dermatófitos em coelhos e cobaios e avaliar a importância de alguns fatores de risco na presença desse microrganismo. Agradecemos desde já a sua contribuição neste projeto.

Identificação do animal:

Nome: _____

Idade: _____ anos

Espécie: Coelho ☐

Cobaio ☐

Sexo: Macho ☐

Fêmea ☐

1. O seu animal já teve problemas dermatológicos no passado?

Não ☐

Sim ☐

Quais? _____

2. Qual a proveniência do seu animal?

Loja de animais ☐

Criador ☐

Particular ☐

Adoção ☐

Outra ☐

Qual? _____

3. O seu animal convive e/ou é manipulado por crianças, idosos ou indivíduos imunodeprimidos (ex: a realizar quimioterapia)?

Não ☐

Sim ☐

4. Tem mais animais em casa?

Não ☐

Sim ☐

4.1. Se sim, quais?

Coelho ☐

Cobaio ☐

Cão ☐

Gato ☐

Outros ☐

Quais? _____

5. Qual o substrato que utiliza no fundo da gaiola?

Aparas de madeira ☐

Madeira prensada ☐

Papel prensado ☐

Papel de jornal ☐

Outro: _____ ☐

5.1. Onde adquire o mesmo substrato?

Loja de animais ☐ Supermercado ☐ Internet ☐
Avulso ☐ Outro ☐ Qual? _____

6. O seu animal tem acesso ao exterior?

Não ☐ Sim ☐ Onde? (ex: quintal, rua, terraço) _____

7. Costuma banhar o seu animal?

Não ☐ Sim ☐ Que produtos utiliza? _____

8. O seu animal tem ou já teve problemas dentários?

Não ☐ Sim ☐

9. Que tipos de alimentos fornece ao seu animal?

Ração ☐ Feno ☐ Vegetais ☐ Fruta ☐

9.1. Qual o tipo de ração?

Muesli ☐ Pellets ☐

9.2. Onde adquire o feno e a ração?

Loja de animais ☐ Supermercado ☐ Internet ☐
Avulso ☐ Outro ☐ Qual? _____

10. O seu animal está a fazer alguma medicação de momento?

Não ☐ Sim ☐ Qual? _____

Eu, _____, autorizo a recolha de amostras de pelo do meu animal e a sua utilização para posterior investigação e tratamento de dados, integrado num trabalho de fim de mestrado na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, contribuindo para o projeto sobre fungos dermatófitos em coelhos e cobaias.

Lisboa____ de _____ de 20__

4. Espécies fúngicas reportadas na pele e pelo de diversas espécies animais

Tabela 39 – Apresentação das fontes bibliográficas em que as espécies fúngicas encontradas neste estudo já foram isoladas a partir da pele e pelo tanto nas espécies em estudo, coelho e cobaio, como noutras espécies animais (Legenda: **Co** – Coelho; **Cb** – Cobaio; **C** – Cão; **G** – Gato; **O** – Outro)

Estudo	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Candida</i> sp.	<i>Chaetomium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Mucor</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Phoma</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Rhodotorula</i> sp.	<i>Scopulariopsis</i> sp.
Aho (1983)	C, G, O	C, G, O		C, G, O	C, G, O	C, G, O	C, G, O	C, G, O	C, G, O	C, G, O	C, G, O
Balsari et al. (1981)	Cb	Co, Cb	Co, Cb		Cb		Co, Cb				Cb
Bentubo et al. (2006)		O			O		O				O
Bernardo et al. (2005)	C, G	C, G	C, G		C, G		C, G	C, G	C, G		C, G
Cabañes et al. (1996)	C	C		C		C	C	C	C		C
d'Ovidio et al. (2014)	Cb	Cb			Cb	Cb	Cb		Cb		Cb
Efuntoye & Fashanu (2001)	O	O			O		O				
Khosravi (1996)	G	G	G		G	G	G		G		G
Moriello & Deboer (1991)	G	G	G		G		G		G		G
Paixão et al. (2001)	C	C	C	C	C, G		C, G		C, G		
Sierra et al. (2000)	G	G	G		G		G			G	G
Stojanov et al. (2007)	C	C				C	C				
Sympania & Baxter (1996)	C, G	C, G			C, G	G	C, G		G		C

5. Descrição das espécies fúngicas isoladas

Tabela 40 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos isoladas em cultura

Espécie	Morfologia
<i>Alternaria sp.</i>	<p>Macroscópica</p> <p>A colônia de <i>Alternaria sp.</i> é plana e torna-se algodonosa ao longo do período de incubação, apresentado por vezes um rebordo branco. É um organismo dematiáceo, tendo um pigmento castanho ou verde escuro (Fisher & Cook, 1998) (Figura 19).</p>
	<p>Microscópica</p> <p>Podem observar-se hifas septadas (Figura 20-a1) e pigmentadas. Os conidióforos são septados, simples ou ramificados (Figura 20-a2) e também apresentam uma coloração escura. Os conídios, denominados poroconídios, são multicelulares, com septos transversais e longitudinais, têm a forma de clavas e são dematiáceos, lisos ou rugosos (Fisher & Cook, 1998) (Figura 20-b).</p>

Figura 19 – Morfologia macroscópica de *Alternaria sp.* em SCA após 16 dias de incubação: a) Superfície da cultura (seta); b) Reverso da cultura (seta) (Originais)

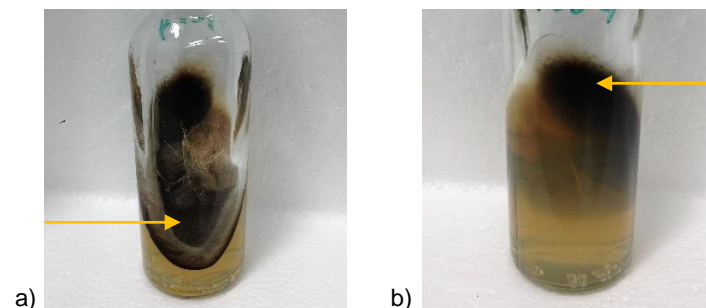


Figura 20 – Morfologia microscópica de *Alternaria sp.*: a) 1 – Hifas septadas; 2 – Conidióforo ramificado; b) Poroconídio (Originais)

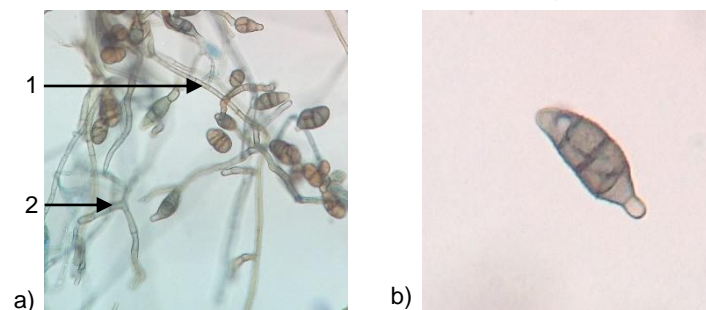


Tabela 40 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos isoladas em cultura (continuação)

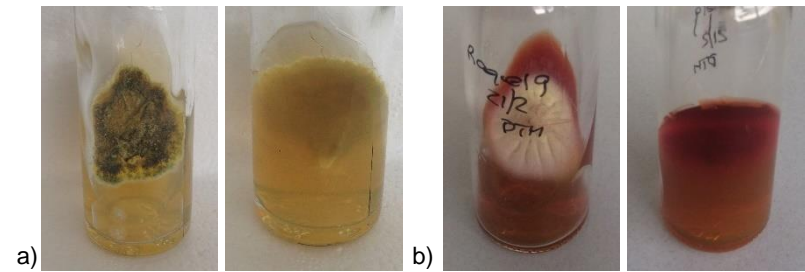
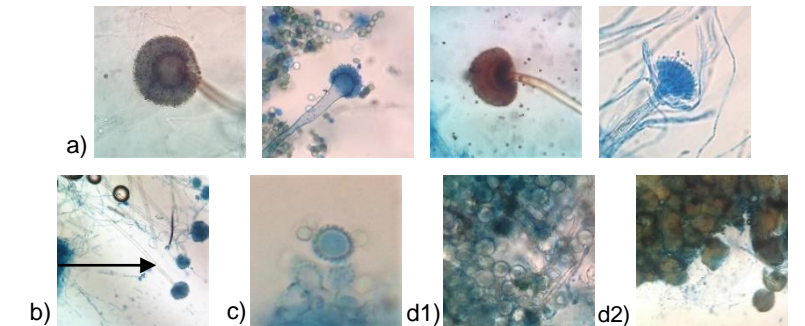
Espécie	Morfologia
Aspergillus spp.	<p>Macroscópica</p> <p>Difere de acordo com a espécie, podendo assumir variadas colorações, como branca, amarela, amarelo-esverdeada, castanha, verde azulada, cinzenta ou preta (Figura 21). A textura pode ser algodonosa, aveludada ou granulosa, podendo assumir uma topografia pregueada ou rugosa (Fisher & Cook, 1998).</p> <p>Microscópica</p> <p>Varia ligeiramente em função da espécie; no entanto, apresentam várias características em comum, incluindo: hifas septadas e hialinas, relativamente largas; conidióforos longos (Figura 22-b) que apresentam na sua extremidade uma vesícula, na qual assentam uma (conidiação unisseriada) ou duas (conidiação bisseriada) filas de fiálides, que podem ocupar parte ou quase toda a sua superfície e a partir das quais se formam cadeias de conídios (Figura 22-a). Estes podem ser redondos ou ovalados, com superfície lisa ou rugosa (Figura 22-c) e azul esverdeados a castanhos (Fisher & Cook, 1998).</p>
	<p>Figura 21 – Morfologia macroscópica de <i>Aspergillus</i> spp. (superfície e reverso: a) Cultura em SCA após 16 dias de incubação; b) Cultura em DTM após 13 dias de incubação (Originais)</p>  <p>Figura 22 – Morfologia microscópica de <i>Aspergillus</i> spp.: a) Estrutura reprodutora – vesícula com fiálides e conídios; b) Conidióforo longo (seta); c) Conídios rugosos numa espécie de <i>Aspergillus</i>; d) Estruturas visualizadas aquando da reprodução sexuada: d1 – Células de Hülle em <i>Emericella nidulans</i>, a forma teleomorfa de <i>Aspergillus nidulans</i>; d2 – Cleistotécias (Originais)</p> 

Tabela 40 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos isoladas em cultura (continuação)

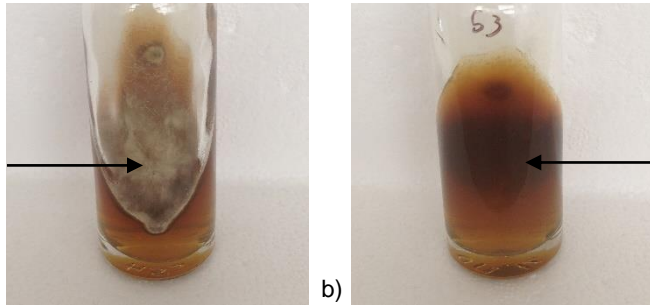
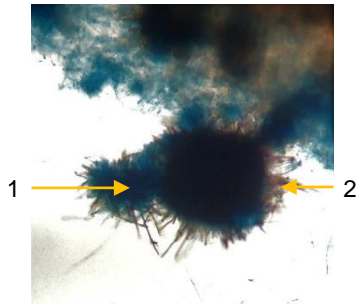
Espécie	Morfologia	
<i>Chaetomium</i> sp.	<p>Macroscópica</p> <p>A morfologia de <i>Chaetomium</i> spp. difere de acordo com a espécie, mas geralmente caracteriza-se por uma coloração branca inicial que, ao longo do tempo de incubação, vai-se tornando cinzenta ou cinzenta-esverdeada na superfície, podendo assumir uma coloração laranja avermelhada, ou castanha a preta, no reverso (Figura 23). A sua textura é algodonosa e a topografia irregular, tendo um crescimento rápido; no entanto, pode necessitar de 8-20 dias para a produção dos corpos frutíferos característicos deste género fúngico (Institut National de Santé Publique du Québec, 2016a).</p>	<p>Figura 23 – Morfologia macroscópica de <i>Chaetomium</i> sp. em SCA após 16 dias de incubação:</p> <p>a) Superfície da cultura (seta); b) Reverso da cultura (seta) (Originais)</p> 
	<p>Microscópica</p> <p>Microscopicamente este género caracteriza-se pela presença de peritécios (Figura 24-1) (corpos frutíferos) que contêm asci. Os asci são estruturas hialinas, de várias formas, que contêm 8 ascosporos unicelulares com formato de limão. Os peritécios podem ser esféricos ou alongados, com um poro de abertura e uma parede celular escura coberta por pelos (Figura 24-2) (Navi, Bandyopadhyay, Hall & Bramel-Cox, 1999). Os pelos do peritécio podem ter várias formas dependendo da espécie (Malloch, 2017).</p>	<p>Figura 24 – Morfologia microscópica de <i>Chaetomium</i> sp.:</p> <p>1 – Peritécio; 2 – Pelos a cobrir o peritécio (Originais)</p> 

Tabela 40 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos isoladas em cultura (continuação)

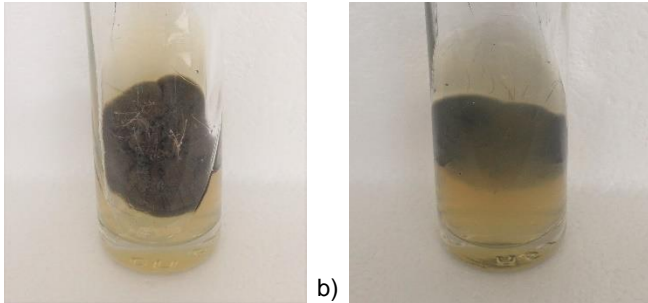
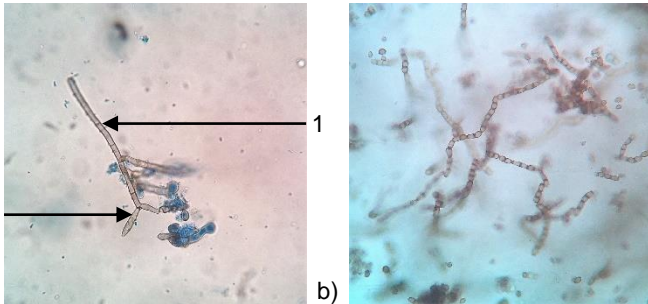
Espécie	Morfologia
<i>Cladosporium</i> sp.	<div>Macroscópica</div> <div>As colónias são planas, densas, com textura aveludada a pulverulenta. De forma semelhante a outros fungos dematiáceos, a superfície da colónia é verde olivácea a verde acastanhada e o reverso preto esverdeado (Fisher & Cook, 1998; Institut National de Santé Publique du Québec, 2016b) (Figura 25). Os fungos pertencentes a este género fúngico apresentam crescimento relativamente lento (Fisher & Cook, 1998; Malloch, 2017).</div> <div><div>Figura 25 – Morfologia macroscópica de <i>Cladosporium</i> sp. em SCA após 16 dias de incubação: a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)</div><div></div></div>
	<div>Microscópica</div> <div>Sendo um fungo dematiáceo, <i>Cladosporium</i> sp. produz hifas pigmentadas e septadas (Figura 26-a1), com conidióforos eretos também pigmentados(Figura 26-a2). Os conídios podem ser constituídos por uma ou duas células, sendo geralmente cilíndricos ou elípticos, de coloração castanha clara a escura. Os conídios formam cadeias (Figura 26-b) frágeis, que se desarticulam muito facilmente, o que faz com que as preparações microscópicas da estrutura integral sejam difíceis de obter. A parede dos conídios pode ser lisa ou, em algumas espécies, rugosa (Institut National de Santé Publique du Québec, 2016b; Malloch, 2017).</div> <div><div>Figura 26 – Morfologia microscópica de <i>Cladosporium</i> sp.: a) Hifa dematiácea septada (1) com conidióforo (2) dematiáceo; b) Cadeias de conídios dematiáceos (Originais)</div><div></div></div>

Tabela 40 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos isoladas em cultura (continuação)

Espécie	Morfologia
<i>Mucor</i> spp.	Macroscópica <p data-bbox="506 459 1155 738">As colônias crescem muito rapidamente, em 2 a 4 dias, e rapidamente preenchem completamente a placa de Petri ou frasco de cultura. Inicialmente a colônia tem uma coloração branca, que ao longo do tempo de incubação vai-se tornando mais cinzenta, com manchas escuras à superfície, que correspondem aos esporângios (Fisher & Cook, 1998). Relativamente à sua textura, são colônias algodonosas (Figura 27).</p>
	Microscópica <p data-bbox="506 834 1155 1321">As hifas são hialinas, largas e asseptadas ou muito pouco septadas (Figura 28-1). Possuem uma estrutura reprodutiva denominada esporângio (Figura 28-2), que emerge a partir de um esporangióforo longo e reto que surge irregularmente a partir das hifas. O esporangióforo alarga-se na extremidade formando a columela (Figura 28-3), que pode ter várias formas e ser hialina ou pigmentada. Os esporângios são sacos cheios de esporangiosporos unicelulares, ovóides ou elípticos, de coloração amarela a castanha. A apresentação microscópica de <i>Mucor</i> spp. é muito semelhante à de <i>Rhizopus</i> spp.; no entanto, ao contrário deste último, <i>Mucor</i> spp. não possui rizóides (Fisher & Cook, 1998).</p>

Figura 27 – Morfologia macroscópica de *Mucor* sp. em SCA após 8 dias de incubação:
a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)



Figura 28 – Morfologia microscópica de *Mucor* sp.:
1 – Hifa asseptada; 2 – Esporângio; 3 – Columela (Originais)



Tabela 40 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos isoladas em cultura (continuação)


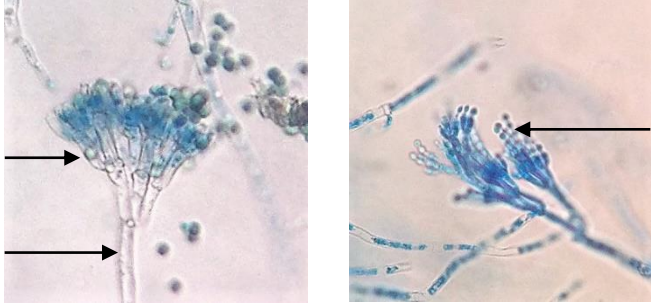
Espécie	Morfologia
<i>Penicillium</i> spp.	Macroscópica
	<p>As colônias são de crescimento rápido, apresentando normalmente uma tonalidade verde e, por vezes, periferia branca, com reverso branco; apresentam uma superfície densa, de textura aveludada ou pulverulenta e topografia plana ou rugosa (Fisher & Cook, 1998; University of Adelaide, 2016b) (Figura 29).</p>
	<p>Figura 29 – Morfologia macroscópica de <i>Penicillium</i> spp. em SCA (superfície e reverso): a) Cultura após 20 dias de incubação; b) Cultura após 21 dias de incubação (Originais)</p> 
	Microscópica
	<p>As hifas são finas, hialinas e septadas, a partir das quais surgem conidióforos septados (Figura 30-a1). Estes conidióforos ramificam-se e sustentam estruturas denominadas fiálides (Figura 30-a2), a partir das quais surgem cadeiras de conídios (Figura 30-a3). Estes são pequenos, ovóides ou elípticos, hialinos ou levemente pigmentados.</p>
	<p>Figura 30 – Morfologia microscópica de <i>Penicillium</i> sp.: 1 – Conidióforo; 2 – Fiálide; 3 – Cadeia de conídios (Originais)</p> 

Tabela 40 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos isoladas em cultura (continuação)

Espécie	Morfologia	
<i>Phoma</i> sp.	Macroscópica	<p>As colônias apresentam crescimento rápido e geralmente atingem a maturidade em 5 dias. Podem ser aveludadas, pulverulentas ou algodonosas, e geralmente são castanhas escuras acinzentadas. O reverso da colônia apresenta tonalidade castanha escura a verde olivácea no centro, sendo mais clara na margem. Algumas espécies apresentam um tom vermelho arroxeado a amarelo acastanhado (Institut National de Santé Publique du Québec, 2016c) (Figura 31).</p>
	Microscópica	<p>Podem observar-se hifas hialinas ou dematiáceas e corpos frutíferos assexuados do tipo picnídio (Figura 32-a), que correspondem a estruturas redondas, escuras e com uma abertura (ostíolo). Os conídios, formados nos conidióforos dentro do picnídio, são unicelulares, ovais e hialinos. Algumas espécies apresentam clamidosporos multicelulares com septos verticais alterados semelhantes a <i>Alternaria</i> sp. (Figura 32-b) (Institut National de Santé Publique du Québec, 2016c).</p>

Figura 31 – Morfologia macroscópica de *Phoma* sp. em SCA após 16 dias de incubação: a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)

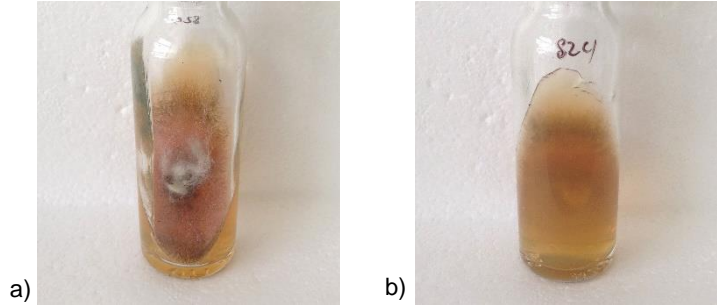


Figura 32 – Morfologia microscópica de *Phoma* sp.: a) Picnídio; b) Clamidosporos (Originais)

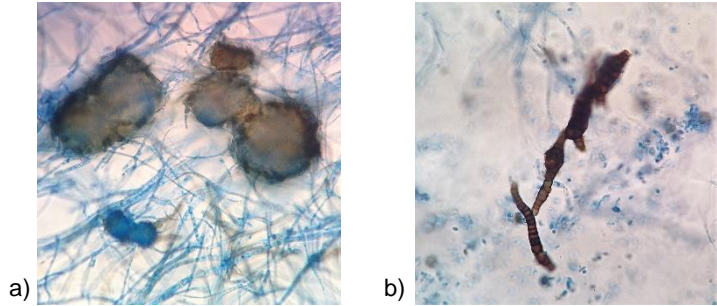


Tabela 40 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos isoladas em cultura (continuação)

Espécie	Morfologia
<i>Rhizopus</i> sp.	Macroscópica <p data-bbox="506 419 1144 722">As colônias apresentam crescimento rápido, em 2 a 4 dias, e textura algodonosa. Tal como <i>Mucor</i> sp., rapidamente preenchem completamente a placa de Petri ou frasco de cultura. Numa fase inicial estas colônias apresentam cor branca, mas ao longo do tempo de incubação podem tornar-se castanhas-acinzentadas com reverso incolor ou de cor creme (Figura 33). A sua superfície reveste-se de pontos negros que correspondem aos esporângios (Fisher & Cook, 1998).</p>
	Microscópica <p data-bbox="506 823 1155 1254">As hifas de <i>Rhizopus</i> sp. são semelhantes às dos outros Mucorales, não septadas ou muito pouco septadas e largas. Os seus esporangióforos são longos, retos e normalmente não ramificados, alargando-se distalmente formando uma columela hemisférica. Os esporângios são redondos e hialinos, de base achatada, tornando-se mais escuros após formação dos esporangiosporos (Figura 34), tendo uma estrutura semelhante aos esporângios de <i>Mucor</i> sp.. Os esporangiosporos são unicelulares, ovóides ou elípticos, de superfície lisa, espinulosa ou estriada, dependendo da espécie. Os membros deste género possuem rizóides muito desenvolvidos (Figura 7, pp. 16) (Fisher & Cook, 1998).</p>

Figura 33 – Morfologia macroscópica de *Rhizopus* sp. em SCA após 5 dias de incubação:

a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)

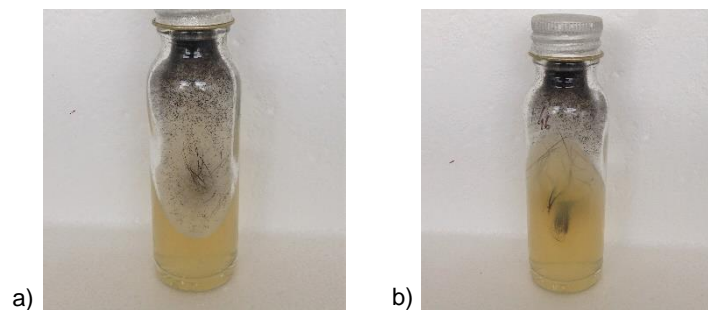


Figura 34 – Morfologia microscópica de *Rhizopus* sp.:

1 – Esporângio; 2 – Columela; 3 – Esporangiosporos (Originais)

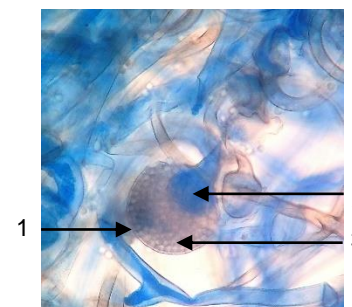


Tabela 40 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos filamentosos isoladas em cultura (continuação)

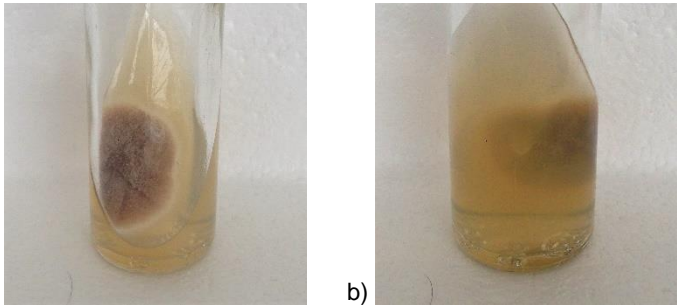

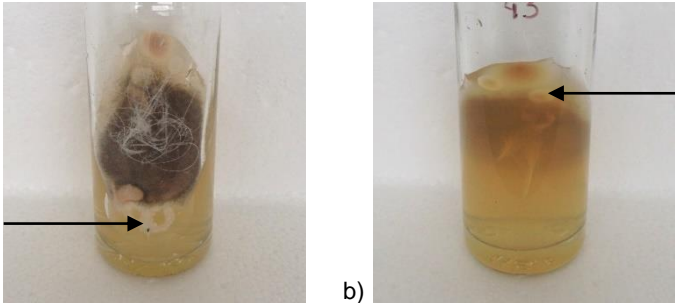
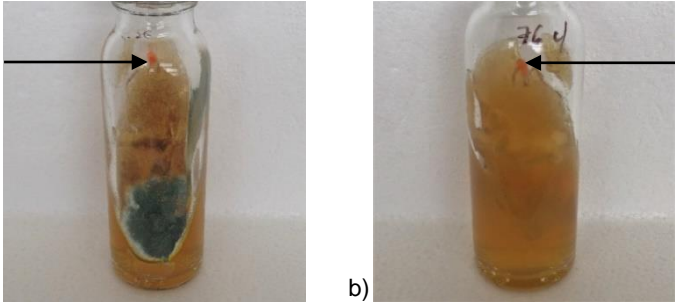
Espécie		Morfologia
Scopulariopsis spp.	Macroscópica	<p>As colônias de <i>Scopulariopsis</i> spp. amadurecem rapidamente, em 2 a 4 dias. No início são brancas, tornando-se geralmente de coloração castanha clara com a periferia mais clara e reverso acastanhado. A sua topografia é rugosa com pregas irregulares e a sua textura aveludada ou pulverulenta (Figura 35). As colônias podem assemelhar-se às de <i>Microsporum gypseum</i>, distinguindo-se destas através de observação microscópica (Fisher & Cook, 1998).</p> <p>Figura 35 – Morfologia macroscópica de <i>Scopulariopsis</i> sp. em SCA após 6 dias de incubação: a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)</p> 
	Microscópica	<p>As hifas são largas e septadas e possuem anelóforos (Figura 36-a), que correspondem a conidióforos especializados de onde surgem os anelídeos e partir dos quais se formam as cadeias de conídios, os aneloconídios (Figura 36-b), são unicelulares, relativamente grandes, hialinos ou levemente pigmentados, globosos ou piriformes. Os conídios mais maduros podem apresentar uma parede espessa e equinulada (Figura 36-c) (Fisher & Cook, 1998).</p> <p>Figura 36 – Morfologia microscópica de <i>Scopulariopsis</i> sp.: a) Anelóforo (seta); b) Cadeia de aneloconídios; c) Aneloconídio espiculado (Originais)</p> 

Tabela 41 – Descrição da morfologia macro e microscópica das espécies de fungos leveduriformes isoladas em cultura

Espécie	Morfologia
<i>Candida</i> sp.	<p>Macroscopicamente as colônias de <i>Candida</i> sp. são planas, de textura leveduriforme e coloração branca a creme (Figura 37).</p> <p>Microscopicamente <i>Candida</i> sp. apresenta células leveduriformes, podendo também apresentar pseudo-hifas ou mesmo hifas septadas, devido ao seu dimorfismo consoante as condições ambientais (Pressler, 2012) (Figura 9, pp. 18).</p>
	<p>Figura 37 – Morfologia macroscópica de <i>Candida</i> sp. em SCA após 8 dias de incubação:</p> <p>a) Superfície da cultura (seta); b) Reverso da cultura (seta) (Originais)</p> 
<i>Rhodotorula</i> sp.	<p>Macroscopicamente as colônias de <i>Rhodotorula</i> sp. têm uma morfologia muito característica: são planas, de textura leveduriforme e de coloração laranja salmão (University of Adelaide, 2016a) (Figura 38).</p> <p>Microscopicamente <i>Rhodotorula</i> sp. exhibe células leveduriformes ovais ou globosas ou blastosporos (University of Adelaide, 2016a).</p>
	<p>Figura 38 – Morfologia macroscópica de <i>Rhodotorula</i> sp. em SCA após 6 dias de incubação (seta): a) Superfície da cultura; b) Reverso da cultura (Originais)</p> 

6. Resultados da análise de regressão

Tabela 42 – Resultados da análise de regressão entre a variável dependente “positividade na cultura micológica” e as variáveis independentes consideradas

Variável dependente	Variável independente	Categorias	Coefficiente	Desvio padrão	valor-p
Número de positivos	Local	Lisboa	0,080111	0,070982	0,2615
	Espécie	Coelho	-2,812	$9,945 \times 10^{-1}$	0,00469 **
	Género	Macho	$5,942 \times 10^{-1}$	$5,544 \times 10^{-1}$	0,28378
	Idade	—	$2,983 \times 10^{-1}$	$9,747 \times 10^{-2}$	0,00221 **
	Proveniência	Loja de animais	2,540	1,170	0,02985 *
		Criador	1,751	1,906	0,35808
		Particular	1,358	1,518	0,37112
	Doença dentária adquirida	Presença	$-1,539 \times 10^{-1}$	$6,466 \times 10^{-1}$	0,81189
	Contacto com outros animais	Cão	0,72085	0,45056	0,1220
		Gato	-0,43221	0,49383	0,3907
		Coelho	0,36465	0,25930	0,1728
		Cobaio	0,33537	0,27617	0,2381
		Chinchila	0,12792	0,66845	0,8489
	Substrato	Papel prensado	-0,08388	0,34427	0,8096
		Madeira prensada	-0,29685	0,29765	0,3287
		Areia de gato	-0,39762	0,35118	0,2701
		Resguardos	-0,24376	0,67087	0,7191
		Toalhas	-0,97000	0,49723	0,0542 .
		Cereais prensados	-0,11319	0,36296	0,7558
		Areia vegetal	-0,42000	0,63008	0,5125
	Origem do substrato	Loja de animais	0,20527	0,24483	0,4043
		Supermercado	0,16676	0,16208	0,3053
	Alimento	Ração	0,48166	0,47429	0,3115
		Feno	0,39097	0,45443	0,3910
		Fruta	0,47627	0,45909	0,3012
		Vegetais	0,48032	0,44924	0,2867
		Pão	0,38270	0,55330	0,4904
	Ração	<i>Pellets</i>	-0,15936	0,15820	0,3246
	Origem do alimento	Loja de animais	-0,32507	0,37004	0,3856
		Supermercado	-0,31608	0,33403	0,3500
	Acesso ao exterior	Rua	0,17066	0,35405	0,6354
		Quintal	0,34288	0,20971	0,1150
		Jardim público	0,79459	0,47662	0,0977 .
		Terraço	-0,20724	0,36657	0,5780
	Banho	Sim	0,05344	0,21650	0,8074
	Medicação	Antiinflamatório	2,531	1,044	0,01532 *
		Antiparasitário	3,536	1,899	0,06267 .
		Antibiótico	2,436	1,167	0,03680 *
		Antifúngico	$1,247 \times 10^1$	$8,137 \times 10^3$	0,99878
		Analgésico	$-1,193 \times 10^{-1}$	1,483	0,93586
		Vitaminas	-3,242	1,736	0,06188 .
		Probióticos	$1,849 \times 10^1$	$2,212 \times 10^5$	0,99993
		Pró-cinético	$-2,235 \times 10^1$	$2,325 \times 10^5$	0,99992
	Meio de cultura	SCA	2,986	$4,775 \times 10^{-1}$	$4,01 \times 10^{-10}$ ***
	Método de colheita	Escova	-0,08674	0,14934	0,5622

Tabela 43 – Resultados da análise de regressão entre a variável dependente “número de espécies fúngicas” e as variáveis independentes consideradas

Variável dependente	Variável independente	Categorias	Coefficiente	Desvio padrão	valor-p
Número de espécies fúngicas	Local	Lisboa	0,19019	0,12459	0,1297
	Espécie	Coelho	-0,428498	0,282767	0,14005
	Género	Macho	0,044014	0,169940	0,79765
	Idade	–	0,054405	0,029778	0,07835 .
	Proveniência	Loja de animais	0,366238	0,351760	0,30610
		Criador	1,165101	0,589461	0,05758 .
		Particular	-0,006411	0,451370	0,98875
	Doença dentária adquirida	Presença	-0,115062	0,195643	0,56128
	Contacto com outros animais	Cão	1,815347	0,889183	0,053652 .
		Gato	0,107732	0,981259	0,913665
		Coelho	0,460553	0,513964	0,380614
		Cobaio	0,638197	0,553708	0,263399
		Chinchila	-1,010326	1,252532	0,423662
	Substrato	Papel prensado	0,067726	0,681909	0,921815
		Madeira prensada	-0,055803	0,589690	0,925514
		Areia de gato	-0,398070	0,700818	0,576639
		Resguardos	-1,723122	1,315248	0,202270
		Toalhas	-0,956345	0,911333	0,297345
		Cereais prensados	-1,361780	0,656293	0,040224 *
		Areia vegetal	0,244107	1,259578	0,848421
	Origem do substrato	Loja de animais	0,335192	0,451691	0,460265
		Supermercado	0,228021	0,281294	0,419004
	Alimento	Ração	1,328621	0,825614	0,109752
		Feno	0,916870	0,790083	0,247789
		Fruta	0,385158	0,799038	0,630519
		Vegetais	0,488230	0,782261	0,533530
		Pão	0,542895	0,948621	0,568140
	Ração	<i>Pellets</i>	-0,011536	0,315201	0,971163
	Origem do alimento	Loja de animais	-0,419855	0,717662	0,562766
		Supermercado	-0,345448	0,644973	0,596120
	Acesso ao exterior	Rua	0,380810	0,714589	0,601004
		Quintal	1,012497	0,414648	0,023260 *
		Jardim público	1,486831	0,847660	0,081777.
		Terraço	0,201894	0,735818	0,786843
	Banho	Sim	-0,378714	0,438532	0,397827
	Medicação	Antiinflamatório	0,327746	0,288820	0,26246
		Antiparasitário	0,763862	0,389811	0,05336 .
		Antibiótico	0,673322	0,329352	0,04552 *
		Antifúngico	1,255250	0,641294	0,05201 .
		Analgesico	0,138101	0,425918	0,74634
		Vitaminas	-0,734793	0,514775	0,15654
		Probióticos	-0,006444	0,817984	0,99372
		Pró-cinético	0,084899	0,740992	0,90892
	Meio de cultura	SCA	0,809049	0,094272	1,39x10⁻¹⁴ ***
	Método de colheita	Escova	-0,803429	0,260067	0,002408 **

Dermatophytosis in exotic pets in Portugal

Nikonov, V; Lança, A; Ramos, A; Abreu, R; Tavares, L; Bernardo, F; Oliveira, M

Interdisciplinary Centre of Research in Animal Health (CIISA) / Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Lisbon, Portugal



Introduction

Exotic animals' relevance as pets is increasing in European households. These "new companion animals" include relatively known and other less common species.

Dermatophytes are a group of keratinophilic fungi, associated with cutaneous infections known as dermatophytosis or ringworm disease, usually restricted to nonliving cornified layers, which symptoms range from mild to severe.

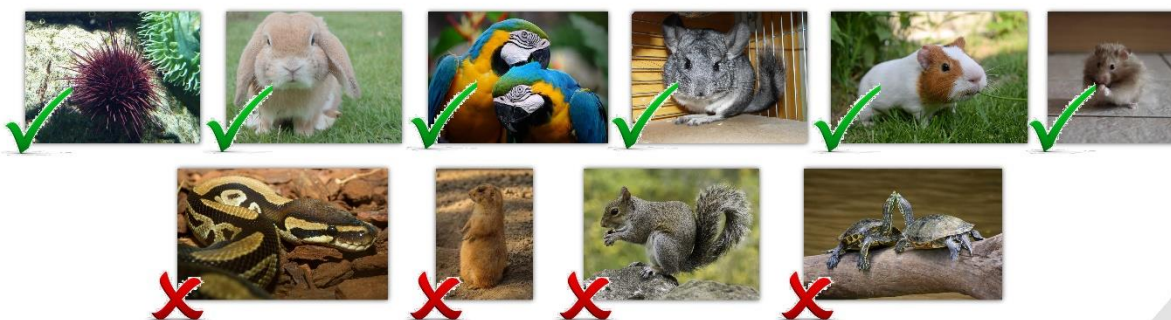
Trichophyton, and *Microsporum* are the most frequent genera of dermatophytes isolated from pets. In spite of their relevance as zoonotic agents, the potential role of exotic pets in dermatophytosis dissemination is not well established.

Methods

From 2001 to 2016, hair and scales samples were collected from exotic animals with lesions clinically suggestive of ringworm disease. A total of 189 samples were obtained, from rabbits (n=76), parrots (n=36), guinea pigs (n=28), chinchillas (n=20), hamsters (n=14), prairie dogs (n=5), squirrels (n=3), urchins (n=3), turtles (n=2) and pythons (n=2). Samples were inoculated in Sabouraud Dextrose Agar with cycloheximide and chloramphenicol, for 21 days at 28°C. Fungal species identification was performed by macro and microscopic examination

Results

Only 16.4% of the animals included in this study were positive for the presence of dermatophytes. Positive animals included: chinchillas (65%), in which the most frequently identified dermatophyte was *M. canis* (57%); guinea pigs (21.4%), in which the only pathogen identified was *M. canis*; rabbits (18.4%), with *Trichophyton mentagrophytes* (42.9%) and *Microsporum gypseum* (28.6%) being the most frequently identified species; and parrots (5.6%), who tested positive for *T. mentagrophytes* and *Microsporum canis*. Only 1 hamster and 1 urchin tested positive for the presence of *M. canis* and *Trichophyton terrestre*, respectively. All prairie dogs, squirrels, turtles and pythons tested negative for these pathogens.



Discussion

To our knowledge, this is the first survey of dermatophytes in household exotic pets in Portugal, including a large variety of animal species. Among the "new companion species", chinchillas, guinea pigs and rabbits appear to be more susceptible to dermatophytosis. Fungal species distribution seems to be similar to what is observed for traditional pets, namely dogs and cats.

As exotic animals may be relevant vectors for the transmission of this zoonosis to humans and another companion animals, there is an urgent need for conducting wide dermatophytes prevalence studies in these species.



References: Weitzman I, Summerbell RC, 1995. Clin Microbiol Rev 8, 240-259; Marietto-Gonçalves GA, 2015. Acta Vet Bras. 9, 274-278; Cafarchia C, Romito D, Capelli G, Guillot J, Otranto D. 2006. Vet Dermatol 17, 327-331

Acknowledgments: Work was supported by the Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon (Project UID/CVT/00276/2013).

